

F A C U L T E D E M E D E C I N E D E P A R I S
Année 1962

N°

T H E S E
pour le
D O C T O R A T E N M E D E C I N E
(Diplôme d'Etat)

636

Par

Pierre DUPOUEY
Né le 29 Juillet 1929 à Vic Fezensac (Gers)

Présentée et soutenue publiquement le : 1962

C O M P A R A I S O N
P A R D E S T E C H N I Q U E S I M M U N O L O G I Q U E S
D E S I X E S P E C E S
D E T R E P O N E M E S A N A E R O B I E S
D' O R I G I N E G E N I T A L E

(Treponema Reiter, phagedenis, calligra, refringens, minutum, pallidum)

Travail effectué à l'Institut Pasteur
Service Antigènes - Sérologie -

Président de Thèse : Monsieur le Professeur R. FASQUELLE
Professeur de Bactériologie
à la Faculté de Médecine de Paris

THESE
pour le
DOCTORAT EN MEDECINE
(Diplôme d'Etat)

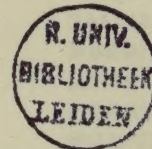
Par

Pierre DUPOULY
Né le 29 Juillet 1929 à Vic Fezensac (Gers)

Présentée et soutenue publiquement le :

COMPARAISON
PAR DES TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES
DE SIX ESPECES
DE TREPONEMES ANAEROBIES
D'ORIGINE GENITALE

(Treponema Reiter, phagedenis, calligra, refringens, minutum, pallidum)



Travail effectué à l'Institut Pasteur
Service Antigènes - Sérologie -

Président de Thèse : Monsieur le Professeur R. FASQUELLE
Professeur de Bactériologie
à la Faculté de Médecine de Paris

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Debré (R.), Fey (B.), Gastinel (P.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Olivier (E.), Pasteur Valléry-Radot, Petit-Dutaillis (D), Quénu (J.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.).

DOYEN Léon BINET.

Membre de l'Institut

1^{er} ASSESSEUR Jean VERNE

2^e ASSESSEUR Gaston CORDIER

I. — PROFESSEURS

1^o CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

MM.

Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	{ JAYLE (M.-F.)
	{ SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	N...
Histologie	VERNE (J.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (P.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	GALLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	HUGUIER (J.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	MILLIEZ (P.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	BOUDIN (G.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	{ BINET (L.)
	{ BARGETON (D.)
Physiologie et pathologie obstétricale	LEPAGE (F.)
Physique médicale	{ DOGNON (A.)
	{ DJOURNO (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	N...
Thérapeutique	CONTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Biochimie médicale	{ DESGREZ (P.)
	{ POLONOVSKI (J.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Hygiène et médecine préventive	DEPARIS (M.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pharmacologie	LÉVY (M ^{lle} J.)
Physiologie	PARROT (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.)

2^e CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

MM.

Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		MOUQUIN (M.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Pitié	CORDIER (G.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		GAUDART d'ALLAINES (F. de)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		FUNK-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)		CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales	Boucicaut	LENÈGRE (J.)
	Broussais	SOULÉ (P.)
	Cochin	JUSTIN-BESANÇON (L.)
	Cochin	BROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
Clinique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)		DEBRAY (C.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)		GENNES (L. de)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)		DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)		DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)		GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque	LACOMME (M.)
	Foch (Suresnes)	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)		VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)		RENARD (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)		AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)		LELONG (M.)
Clinique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)		MARIE (J.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)		BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)		MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)		COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Pitié)		DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)		ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)		LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique		GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique		PADOVANI (P.)
Sémiologie médicale		DOMART (A.)
Sémiologie et clinique chirurgicales		POILLEUX (F.)
Clinique urologique (Necker)		COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)		TURPIN (R.)

b) Professeurs à titre personnel :

Médecine	BOUR (H.)
	LHERMITTE (F.)
	PEQUIGNOT (H.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAÎTRES DE CONFÉRENCES - AGRÉGÉS

	MM.
Anatomie	CABROL (C.) COUINAUD (C.) GILLOT (G.) OLIVIER (G.) GAUTHIER-VILLARS (M ^{lle} P.) pr. s. ch. ABELANET (R.) BUSSE (F.) CHOMETTE (G.) GOUYGOU (Ch.), m. conf. NEZELOFF (Ch.) ORCEL (L.) PAILLAS (J.)
Anatomie pathologique	KERN (E.) VOURC'H (G.)
Anesthésiologie	BARBIER (P.) CHRISTOL (D.) LE MINOR (L.) TOURNIER (P.)
Bactériologie	BAULIEU Et. m. conf. BOURILLON (R.) CARTIER (P.) DREYFUS (J.-Cl.) GONNARD (P.) KRUH (J.) JEROME (M.)
Biochimie médicale	PLAS (F.)
Biologie appliquée à l'Éducation Physique et aux Sports	BOIRON (M.) DENOIX (P.) MATHE (G.) SELIGMANN (M.)
Carcinologie	CIVATTE (J.) DUPERRAT (B.)
Dermato-Syphiligraphie	LEDOUX-LEBARD (G.)
Electro-Radiologie	BESSIS (M.) BILSKI-PASQUIER (G.) DAUSSET (J.) DUHAMEL (G.)
Hématologie	COUJARD (R.), pr. s. ch. MAROIS (M.) RACADOT (J.)
Histologie	BESANÇON (F.) CORNET (A.)
Hydrologie	BOYER (J.) pr. s. ch. BLANCHER (G.) CORRE-HURST (M ^{me} L.) SAPIN-JALOUSTRE (H.)
Hygiène	BASTIN (R.) DUPONT (V.)
Maladies infectieuses	DEROBERT (L.), pr. s. ch. FOURNIER (E.) GUENIOT (M.) HADENGUE (A.)
Médecine légale	ALBAHARY (C.)
Médecine du travail	PERTUISSET (B.)
Neuro-chirurgie	GRANJON (A.) HERVET (E.) LE LORIER (G.) LEVY (J.) MORIN (P.) MUSSET (R.) ROBET (M.) SENEZE (J.) SUREAU (G.) THOYER-ROZAT (J.)
Obstétrique	BRÉGEAT (P.) DUBOIS (A.) SARAUX (H.)
Ophtalmologie	

	MM.
Orthopédie	JUDET (R.) MEARY (R.) POSTEL (M.) RAMADIER (J.)
Oto-rhino-Laryngologie	DEBAIN (J.) PIALOUX (P.)
Parasitologie	GOLVAN (Y.) LAPIERRE (J.)
Pathologie chirurgicale	BARCAT (J.) BINET (J.-P.) CAUCHOIX (J.) CERBONNET (G.) CHATELIN (C.-L.) DUBOST (Ch.) DUBOST (Cl.) FAUREL (J.) FLABEAU (F.) GARBAY (M.) GARNIER (H.) (Cl. de) GAUDART-d'ALLAINES GERMAIN (A.) LATASTE (J.) LEVEQUE (B.) LOYGUE (J.) MERCADIER (M.) NATALI (J.) PELLERIN (D.) PERROTIN (J.) ROBERT (H.) THOMERET (G.)
Pathologie exotique	SCHNEIDER (J.)
Pathologie expérimentale	BENHAMOU (J.-P.) BERTHAUX (P.) BOIVIN (P.) CROSNIER (J.) HARTMANN (L.) LÉPER (J.) MAURICE (J.) MIKOL (Cl.) RICHET (G.)
Pathologie médicale	AUSSANNAIRE (M.) BOUVIER (J.) BOUVRAIN (Y.) BRICAIRE (H.) BRISSAUD (H.) BROCARD (H.) BUGE (A.) CATINAT (J.) CHRÉTIEN (J.) COBLENTZ (B.) CONTAMIN (F.) COURY (C.) ÉTIENNE (J.-P.) FREZAL (J.) FRITEL (D.) HENNEQUET (A.) HIMBERT (J.) HOUSSET (E.) LAROCHE (Cl.) LESOBRE (R.) MACREZ (C.) MOREAU (L.) NICK (J.) ROYER (P.) TOURNEUR (R.) WOLFROMM (R.)
Pédiatrie-Puériculture	JOSEPH (R.) LAFOURCADE (J.) LEPERCQ (G.) MANDE (R.) MOZZICONACCI (P.) POLONOVSKI (G.) ROSSIER (A.) VIALATTE (J.)

	MM.
Pharmacologie	BOISSIER (J.) LECHAT (P.) BARRES (G.) DEJOURS (P.) DURAND (J.) GIRARD m. conf. HUGELIN (A.) SCHERRER (J.) CHANTEUR (J.) COUGEROT (L.), m. conf. pr. s. ch.
Physiologie	
Physique médicale	GREMY (F.) m. conf. MILHAUD (G.) PELLERIN (P.) ROUCAYROL (J.-Cl) TUBIANA(M.) m.conf.
Pneumo ptisiologie	KREIS (B.) MEYER (A.) RENAULT (P.)

	MM.
Psychiatrie	PICHOT (P.)
Psychiatrie infantile	DENIKER (P.) DUCHE (D.) FLAVIGNY (H.) LAPRESLE (J.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)
Stomatologie	CERNEA (P.) CHAPUT (M ^{me} A.) m. c. agr. GRELLET (M.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.) LAMOTTE (M.) MARCHE (J.)
Urologie	AUVERT (J.) MOULONGUET (A.) QUENU (L.)

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent.

	MM.
Anatomie	DEBEYRE (J.)
Clinique chirurgicale	ABOULKER (P.) AMFLINE (A), pr. s. ch. VERNE (J.-M.)
Clinique médicale	PERRAULT (M.) RAMBERT (P.) THIEFFRY (S.)
Clinique obstétricale	GRASSET (J.) MAYER (M.)

	MM.
Clinique ophtalmologique	DESIGNES (P.) OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngo- logique	MADURO (R.)
Clinique pédiatrique et pué- riculture	LAPLANE (R.)
Clinique psychiatrique	BARUK (H.)
Clinique urologique	KUSS (R.)

IV. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

V. - CHARGÉS DE COURS D'HYGIÈNE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Secrétaire principal	Mlle CHAINTREUIL (G.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque	
Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateur	Mlle DUMAITRE (P.)
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Milles LAURENT (H.), LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur Jacques TRAPOLL
Directeur de l'Institut Pasteur
Membre de l'Institut
Secrétaire de l'Académie Nationale de Médecine

A Monsieur le Professeur R. FASQUELLE

A Monsieur le Docteur MARCOTTE

qui a bien voulu nous faire l'honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

A Monsieur le Docteur GIBLART

Secrétaire Général de l'Institut Pasteur

A Monsieur le Professeur Jacques TREFOUEL

Directeur de l'Institut Pasteur
Membre de l'Institut
Membre de l'Académie Nationale de Médecine

A Monsieur le Docteur MARNEFFE

Sous-Directeur de l'Institut Pasteur

A Monsieur le Docteur AUBLANT

Secrétaire Général de l'Institut Pasteur

A Mademoiselle FAURE
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur

qui nous a accueilli dans son Service, nous a inspiré ce sujet,
nous a guidé et aidé dans notre travail,

En témoignage de notre reconnaissance
et de notre respectueux attachement.

A Monsieur J. PILLOT
Chef de Laboratoire à l'Institut Pasteur

auprès de qui nous avons trouvé
les conseils, l'aide et la compréhension indispensables.

A Monsieur J. OUDIN
Chef de Service à l'Institut Pasteur

qui nous a initié aux techniques de diffusion en gel
et nous a aidé de ses conseils.

A tous ceux qui ont contribué
à ma formation humaine et scientifique.

Au personnel technique du Laboratoire des Antigènes
qui a facilité notre travail
et contribué à la réalisation de notre thèse.

A - I N T R O D U C T I O N

Les nombreux essais conduits en vue d'obtenir la culture et l'isolement de *treponema pallidum*, agent responsable de la syphilis, ont jusqu'à ce jour échoué. Ils ont eu cependant l'avantage d'attirer l'attention des chercheurs sur la flore spirochètienne saprophyte des voies génitales humaines et des lésions, syphilitiques ou non, de la région génito-anale.

De nombreuses espèces ont été ainsi isolées et caractérisées d'après des critères principalement morphologiques, cultureux et plus rarement sérologiques (encore, s'agissait-il le plus souvent d'agglutinations).

Les espèces ainsi isolées peuvent être séparées en deux grands groupes, classification plus historique que bactériologique et très subjective puisqu'elle distingue les saprophytes reconnus d'emblée comme tels des germes assimilés, lors de leur isolement, au tréponème pâle lui-même, devenu plus ou moins rapidement apathogène. Ces derniers conservent encore aujourd'hui, aux yeux de certains, le bénéfice du doute.

Un choix, qui n'eut rien de concerté, nous a conduit à étudier comparativement, par des techniques d'agglutination, de fixation du complément, de diffusion en gélose, cinq espèces de spirochètes ayant, entre autres points communs, ceux d'avoir été tous trouvés, par un ou plusieurs auteurs, dans la région génito-anale normale ou pathologique et de figurer dans les collections d'anaérobies de l'Institut Pasteur de Paris.

Quatre d'entre eux appartiennent à cette catégorie de germes dont le caractère saprophyte ne fait aucun doute. Ce sont : *treponema phagedenis*, *treponema calligyra*, *treponema minutum*, *treponema refringens*.

Le dernier, *treponema reiter*, est tenu, par quelques auteurs, pour un tréponème pâle authentique, à telle enseigne qu'il est parfois nommé *treponema pallidum*, souche Reiter.

B - P L A N D E T R A V A I L

Nous examinerons tout d'abord les critères historiques qui ont justifié l'isolement et le maintien de ces espèces en collection et expliquent leurs places au sein des diverses classifications. Ces critères sont l'historique de leur découverte, leurs caractères culturels, morphologiques, métaboliques, leur pathogénicité supposée.

Nous exposerons ensuite les techniques utilisées pour l'étude comparative de ces cinq germes.

A l'occasion de l'entretien systématique des souches, nous avons relevé quelques observations incidentes concernant la morphologie des germes et leur mobilité mais nous n'avons pas voulu ici en faire une étude systématique.

Nous exposerons enfin les résultats que nous a apporté l'usage des techniques sérologiques, appliquées à l'étude de ces tréponèmes et les conclusions que l'on peut en déduire quant à leur structure antigénique, la parenté de ces germes entre eux et avec le tréponème pâle pathogène, leur saprophytisme.

A chaque étape, nous distinguerons les caractères communs à toutes ces espèces des caractères spécifiques.

C - C R I T E R E S H I S T O R I Q U E S
D' I S O L E M E N T E T D E M A I N T I E N
D E S E S P E C E S

L'ensemble de ces germes présente des caractères généraux qui ne varient d'une espèce à l'autre que par des modalités quantitatives ou par des détails. Ce sont eux que nous examinerons d'abord.

I - C A R A C T E R E S G E N E R A U X

1) Historique des isollements et de la conservation des souches

Tous ces germes ont été isolés par différents auteurs de lésions de la région génito-anale dont quelques unes manifestement syphilitiques. Ils voisinaient parfois avec *treponema pallidum*, dans les chancres, syphilomes et condylomes (18, 36).

La plupart d'entre eux ont été retrouvés dans la flore saprophyte génitale normale (23).

Quant aux germes étudiés ici, tous, sauf *treponema reiter*, ont été isolés par Vincent en 1934 et conservés depuis dans la collection de germes anaérobies de l'Institut Pasteur de Paris. La souche de *treponema reiter* a été transmise par le Professeur Pautrizel de la Faculté de Médecine de Bordeaux au laboratoire de Mlle Faure, à l'Institut Pasteur de Paris, où elle est conservée depuis 1954.

2) Milieux utilisés

Les milieux sur lesquels ces cinq germes ont été cultivés sont extrêmement variés.

Si l'on excepte les cas particuliers, passés sous silence en raison de leur faible intérêt, on peut décrire deux types principaux de milieux de culture, tous deux assurant l'indispensable anaérobiose. Dans tous les cas, la croissance se fait à 37°C.

Dans un premier groupe, on rangera les milieux empiriques, liquides ou coagulés, contenant tous un fragment de tissu animal (foie, rein, testicule; de lapin le plus souvent) considéré comme indispensable à la bonne pousse du germe. L'anaérobiose de tels milieux est assurée par divers artifices (forme des tubes, présence même du fragment d'organe, gélification du milieu, couche d'huile à sa surface). C'est le type de milieu utilisé par Noguchi ou par Vincent pour leurs isollements.

Un deuxième groupe comprendra les milieux semi-synthétiques liquides, de type Brewer, dépourvus de fragments d'organe et enrichis par un pourcentage variable de sérum. L'anaérobiose est assurée par des substances réductrices. On désaère avant l'emploi par ébullition au bain-marie. Ce type de milieu assure à nos germes une pousse satisfaisante et c'est lui que nous utilisons.

3) Caractères morphologiques

Les spirochètes sont très polymorphes. Trois des aspects sous lesquels se présentent ces germes paraissent fondamentaux : les formes spiralées, les formes vésiculaires, les formes granulaires. Quelle que soit l'espèce envisagée ici, nous avons retrouvé nous-même ces formes déjà décrites par les auteurs. Seule la proportion de chacune de ces formes varie selon l'espèce et, pour chaque espèce, selon les conditions de la culture et son âge.

C'est sous la forme spiralée que le germe apparaît en début de culture. C'est aussi sous cette forme qu'il est décrit par tous les auteurs car elle est la seule à présenter des caractères distinctifs et la seule à posséder une vitalité indiscutable. Sous la forme spiralée, les cinq espèces étudiées ici présentent un corps cylindrique (16) enroulé en une succession de spires plus ou moins nombreuses, plus ou moins régulières selon l'espèce, l'individu et sa longueur, le stade de culture, la vitalité du germe. Il n'y a pas d'axostyle.

La longueur du corps tréponémique varie entre des valeurs extrêmes pouvant aller de 3 à 4 μ minimum pour *treponema minutum* (4, 23, 29) à 30 μ maximum pour *treponema phagedenis* (18) dans les lésions. La culture semble ramener ces dimensions entre 4 et 15 μ . Sur cette longueur sont réparties de 1 à 16 spires.

L'échelle des largeurs est plus étroite et s'inscrit entre 0,25-0,3 μ pour *treponema minutum* (4, 23) et 0,7 à 0,8 μ pour *treponema phagedenis* (18, 29). Cette variabilité, importante quand les germes sont étudiés en microscopie optique, est considérablement atténuée lorsque les germes sont étudiés en microscopie électronique et préparés à cette fin. Les cinq espèces présentent alors une largeur de corps beaucoup plus réduite et oscillant entre 0,15 et 0,20 μ (16).

Les formes vésiculaires appartiennent à un stade évolutif inévitable dans le cadre de nos procédés actuels de culture et qui apparaît au bout d'un temps variable. Au stade vésiculaire, on trouve dans les milieux une population de formes sphériques ou discoïdales hétérogène quant à la taille (3 à 10 μ), la réfringence, les détails de structure. Des formes spiralées persistent, les unes sans modification, les autres portant en un point quelconque du corps une granulation, plus ou moins grosse, centrale ou distale, axiale ou latéralisée.

Les éléments vésiculaires notés par Shaudinn et Hoffmann sur le tréponème pâle (35), par Noguchi chez les espèces isolées par lui sous le nom de *treponema pallidum*, ont été retrouvés par cet auteur chez les tréponèmes *calligyra*, *refringens* et *phagedenis*. Ils ont été vus chez *treponema Reiter* par Eagle et Germuth (8), chez *treponema minutum* par Moureau et Giuntini. Les différents auteurs ne s'accordent ni sur la signification biologique, ni sur la viabilité de ces formes. Les uns y voient des formes de dégénérescence, les autres les éléments d'un cycle évolutif obligatoire ou facultatif.

Quant aux formes granulaires, elles ont fait l'objet de plus d'affirmations contradictoires que les formes vésiculaires elles-mêmes sur leur viabilité, leur signification évolutive, leur filtrabilité. Ce sont des formes sphériques, optiquement denses, d'environ 1 à 2 μ de diamètre, parfois très nombreuses, libres ou fixées sur le corps tréponémique.

La nomenclature de ces formes est des plus floues, chaque auteur use d'un vocabulaire propre et les mots ne recouvrent pas, d'une étude à une autre, la même réalité. C'est ainsi que la frontière séparant vésicules et granules est arbitraire dans la plupart des cas et se déplace au gré des auteurs selon qu'ils usent de critères morphologiques, micrométriques ou envisagent la signification de ces formes.

4) Physiologie

Elle a fait, pour ces germes, réputés à tort ou à raison comme difficiles à cultiver, l'objet de peu d'études. C'est dire aussi qu'elle n'a pas été considérée jusqu'à maintenant, par les taxonomistes, comme l'un des critères de classement pour ces espèces.

Ce sont des anaérobies stricts, sérophiles obligatoires dans le cadre de nos procédés actuels de culture. Quelques particularités spécifiques seront vues avec chaque germe.

5) Etudes sérologiques

Rares sont les études de ces germes mettant en cause leurs propriétés antigéniques.

Il convient cependant de signaler le travail de Zinsser, Hopkins et Mac Burney qui, en 1916, certains d'avoir isolé des tréponèmes pâles pathogènes, en font l'étude sérologique par des techniques d'agglutination et d'épuisement (39) et les publications de Noguchi et Akatsu qui, pour les mêmes raisons, se livrent, en 1917, au même travail sur d'autres souches, en utilisant cette fois-ci l'agglutination et la fixation du complément (21).

Ce qui nous intéresse dans ces travaux c'est la comparaison qui est faite de ces souches avec divers tréponèmes saprophytes et notamment *treponema calligra* et *treponema refringens*.

Ces auteurs avaient alors conclu à une parenté antigénique entre ces deux derniers germes.

6) Pouvoir pathogène

La non pathogénicité de ces germes est prouvée pour la plupart des auteurs.

Elle a fait cependant l'objet de discussions pour *treponema reiter*, *treponema phagedenis*, *treponema refringens*, sans que les documents apportés semblent convaincants. De ces trois espèces, seule la première s'est parfois vu attribuer un pouvoir de syphilisation. Aux deux autres, on attribue des affections diverses (ulcérations, ophtalmies, etc...). On discutera, à propos de chaque espèce, la validité de telles attributions.

II - CARACTERES SPECIFIQUES DIFFERENTIELS

Nous avons exposé jusqu'ici les caractères communs à toutes les espèces étudiées; caractères qu'il eût été lassant de voir répétés à propos de chaque espèce. Ces caractères généraux présentent cependant des modalités spécifiques qu'il est intéressant de préciser dans chaque cas.

1) TREPONEMA CALLIGYRA

a- Historique des isoléments

Ce germe fut isolé par Noguchi en 1913 (20), la première fois d'un condylome syphilitique humain où le germe voisinait avec le tréponème pâle, la seconde fois d'un condylome de la marge de l'anus chez un enfant de 9 ans à sérologie syphilitique négative. Il a été successivement retrouvé depuis par divers auteurs, dont Noguchi lui-même en 1918 (22,23) dans le smegma preputial humain, par Seguin en 1926 (33), par Vinzent et Seguin en 1939 dans les selles d'un typhique (38).

Il est généralement reconnu comme un saprophyte banal des voies génitales, peut-être plus abondant chez la femme.

La souche étudiée ici a été isolée par R. Vinzent en 1934 d'un ulcère phagédénique de la vulve chez une fillette. Elle a été conservée depuis dans la collection de l'Institut Pasteur de Paris.

b- Morphologie

Ce germe occupe par ses dimensions, dans le groupe des germes étudiés ici, une position médiane.

De 6 à 14 μ de longueur extrême, sa longueur moyenne est de 9 à 12 μ et son épaisseur de 0,35 à 0,4 μ . Les spires sont décrites comme régulièrement arrondies, variant en nombre, avec une amplitude moyenne de 1,5 à 1,75 μ et une profondeur de 0,5 à 1 μ (4, 20,23). Les extrémités du germe sont effilées. Quoique ressemblant à *treponema pallidum*, il est plus épais que lui.

Comme tous les germes, il paraît plus fin au microscope électronique (0,15 μ). Le corps en est cylindrique et les extrémités effilées semblent parfois terminées par une partie sphérique dont le diamètre ne dépasse pas l'épaisseur maximum du corps. Le protoplasme, de structure complexe, entouré d'une enveloppe, porterait une membrane fragile, à armature fibrillaire, insérée en spirale le long du corps microbien(16).

c- Physiologie

En 1913, Noguchi (20) notait l'absence d'odeur et de changement du milieu de culture et l'anaérobiose stricte du germe. A notre connaissance, aucun autre travail n'est venu approfondir la question de la physiologie de *treponema calligya*.

C'est un sérophile obligatoire.

d- Pouvoir pathogène

Il est nul de l'avis de tous les auteurs qui ont décrit ce germe (20).

2) TREPONEMA MINUTUM

a- Historique des isoléments

La souche étudiée ici a été isolée d'un condylome par R. Vinzent et conservée depuis 1934 dans la collection des anaérobies de l'Institut Pasteur. Vinzent lui a donné le nom de "*treponema minutum*" probablement en accord avec la description que donnait Noguchi du germe isolé par lui de la flore génitale en 1918.

Dobell, en 1908 (6), avait décrit un germe spiralé, isolé de l'intestin du crapaud "*bufo vulgaris*". En 1912, il avait donné à ce germe, sans doute différent de celui que nous étudions ici, le nom de *treponema minutum* (7).

C'est en raison de l'antériorité de ce vocable que Bergey, dans son manuel de classification, conteste au tréponème de Noguchi le droit au nom de minutum et lui substitue celui de "genitalis". Prévot accepte, lui, les deux vocables.

Nous conservons à notre souche le nom de minutum donné par Vinzent malgré l'antériorité d'usage revenant à Dobell. C'est d'ailleurs l'attitude adoptée par les auteurs ayant précédemment travaillé sur ce germe (16).

b- Morphologie

Les dimensions et les caractéristiques les plus habituelles de ce germe seraient les suivantes :

- longueur extrême : 3 à 14 μ
- longueur moyenne : 7 à 10 μ
- épaisseur moyenne : 0,25 à 0,3 μ

Il possède 6 à 16 spires ayant une amplitude de 1 μ environ et une profondeur de 0,2 à 0,5 μ . C'est donc le plus ténu des germes saprophytes étudiés ici. Divers auteurs lui attribuent 2 crochets latéraux, un à chaque extrémité (16, 29).

Au microscope électronique, le corps apparaît cylindrique; le cytoplasme posséderait une enveloppe fibrillaire et le germe serait muni de flagelles bipolaires insérés soit en extrémités, soit latéralement à une certaine distance de celles-ci. Les flagelles supporteraient une membrane très fragile (16).

c- Physiologie

Moureau s'est livré sur *Treponema minutum* à l'étude d'un certain nombre de caractères biochimiques. Outre son anaérobiose et la sérophilie obligatoire, c'est un germe non gazogène, ne liquéfiant ni la gélatine, ni le sérum coagulé, sans action sur le lait, le glucose. Il dégage de l'hydrogène sulfuré, réduit la safranine, la phénosafranine, le rouge neutre. Il libère des acides propionique et formique. Il produit 1g. par litre de NH_3 et des traces d'indol (15).

d- Pouvoir pathogène

Il est unanimement reconnu comme nul.

3) TREPONEMA PHAGEDENIS

a- Historique des isolements

Il fut isolé par Noguchi en 1912 (18) d'une lésion ulcéreuse des grandes lèvres.

La souche utilisée ici a été obtenue par Vinzent, en 1934, d'un ulcère phagédénique de la vulve chez une fillette.

b- Morphologie

Ce germe, spiralé, présente, en tenant compte des dimensions données par les différents auteurs, une longueur de 14 à 30 μ , avec une moyenne autour de 15 μ , une épaisseur moyenne de 0,7 à 0,8 μ . Il a de 1 à 8 spires et ses extrémités sont pointues (18, 29).

Etudié au microscope électronique par Moureau et Guintini, il a montré d'après ces auteurs une enveloppe fibrillaire du corps tréponémique avec une membrane vraie. Le corps se présente comme un cylindre légèrement aplati.

c- Physiologie

C'est encore un anaérobie strict, sérophile obligatoire. Son métabolisme, étudié par Moureau (14), serait, contrairement à celui de *treponema refringens*, peu actif. Son type fermentaire est acéto butyrique.

Il faut remarquer qu'il pousse mal dans le milieu de Vinzent, comme le constate Moureau, alors qu'il pousse très abondamment dans notre milieu.

d- Pouvoir pathogène

Vinzent, comme Noguchi, l'isole d'ulcères phagédéniques. Noguchi spécifie bien cependant que le nom qu'il lui attribue est seulement destiné à rappeler son origine et ne préjuge en rien de son rôle pathogène (18).

Prévot, dans son manuel de classification des anaérobies, lui accorde un rôle dans la pathogénicité des ulcères phagédéniques, en association avec un fusiformis (29).

4) TREPONEMA REFRINGENS

a- Historique des isollements

Treponema refringens a été décrit en 1905 par Shaudinn et Hoffmann dans ce même article qui annonçait la découverte du "treponema pallidum" (35). Il fut trouvé dans des syphilomes primaires et plus souvent dans des condylomes acuminés.

Noguchi, en 1912, l'obtient en culture pure. Fréquemment isolé depuis de la flore génitale banale, on le trouverait avec une particulière fréquence dans les balano posthites érosives circinées (3, 4). De cette localisation est née l'espèce "treponema balanitidis" que l'on tient aujourd'hui pour très voisine de treponema refringens, sinon identique. Malheureusement les critères morphologiques sont insuffisants pour trancher cette question et le caractère pathogène tant de l'un que de l'autre germe reste à prouver. Noguchi, en 1912, exprime parfaitement l'insuffisance des critères morphologiques (18) :

" While spirochaeta refringens is now known to be
" non pathogenic, the etiological relation of
" spirochaeta balanitidis to balanitis erosiva
" circinata has not been definitely establish-
" ed . Several difficulties must be overcome in
" order to settle this question.
"
" First of all, it is not easy by morphology alone
" satisfactorily to identify a spiral organism found
" in certain lesions with the organisms previously
" described by these authorities.
"
" For example, there are certain investigators who
" fail to recognize any essential morphological
" differences between spirochaeta refringens and
" spirochaeta balanitidis, while others hold that
" there are at least four distinct varieties which
" were indiscriminately described under the name of
" spirochaeta refringens"

Le problème aujourd'hui paraît résolu pour les taxonomistes puisque ni Prévot, ni Bergey ne le soulèvent, ni ne mentionnent même *spirochaeta balanitidis*.

La souche étudiée ici a été elle aussi isolée en 1954 par R. Vincent d'un chancre syphilitique de l'homme.

b - Morphologie

Les dimensions reconnues à ce germe par Noguchi (19) sont celles admises par la majorité des auteurs : 7 à 22 μ de longueur extrême, 12 à 16 μ de longueur moyenne, 0,7 μ d'épaisseur, de 3 à 5 spires ayant une amplitude de 2 à 3 μ et 0,5 à 1,5 μ de profondeur.

Au microscope électronique, son corps apparaît comme un cylindre légèrement aplati. Les deux extrémités sont coniques mais, alors que l'une d'entre elles porte un flagelle, on distingue nettement, sur les photos, coiffant l'autre extrémité, une sphère dont le diamètre est légèrement inférieur à l'épaisseur du germe. Moureau et Guintini n'ont pas vu de membrane (16).

c - Physiologie

D'après Moureau (14), *treponema refringens* est remarquable par l'activité de son métabolisme. Il produit notamment des quantités appréciables d'ammoniac et d'indol.

d - Pouvoir pathogène

Il a longtemps fait l'objet de controverses. Bordall et Bataille attribuaient soit à *balanitidis*, soit à *refringens*, un rôle dans la balano posthite érosive circonscrite. Les travaux de Levaditi (12) et l'ouvrage de A. Petit (24) semblent avoir tranché dans le sens négatif qui prévaut actuellement.

5) TREPONEMA REITER

a - Historique des isollements

Avec *treponema Reiter*, nous entrons dans cette catégorie de germes qui sont tenus tantôt pour des saprophytes banaux aux exigences culturelles moins grandes que celles de *treponema pallidum* et qui, de ce fait, le sup-

plantent automatiquement, tantôt pour de véritables tréponèmes pâles ayant, par mutations ou sélection, restreint leurs besoins alimentaires.

La pathogénicité de ces souches, sélectionnées pour leur facilité à s'adapter aux milieux de culture, fait elle-même l'objet de controverses. L'article le plus complet et le plus récent sur ce sujet est l'article de Reiter (30) qui ne peut lui-même retrouver l'origine exacte de cette souche. Provient-elle des isollements de Fickers ou des travaux de Reiter après que Fickers eut quitté l'Allemagne? De toute façon, ce germe fut isolé de lésions syphilitiques. En cela il ne se distingue pas des germes déjà vus jusqu'ici.

b- Morphologie

Rares sont les auteurs ayant donné les dimensions de ce germe. Rose et Morton (32) lui attribuent 8 à 12 μ de long avec 4 à 8 ondulations.

Schmerold et Deubner (36 bis), Mölbert (12 bis) ont noté, à l'aide du microscope électronique, l'existence de flagelles à chaque extrémité du germe et d'une structure fibrillaire en spirale autour du corps tréponémique.

c- Physiologie

De nombreux travaux ont abordé le problème de la physiologie de treponema Reiter mais dans l'optique bien particulière d'une amélioration du milieu de culture. Il ne s'agit donc pas d'études physiologiques destinées à faciliter une classification du germe.

Moureau rappelle, à propos de la grosse production d'ammoniac qu'il a rencontrée chez treponema refringens, les travaux de Barban (1 bis) sur le tréponème de Reiter, travaux qui ont montré l'aptitude de ce germe à désaminer 5 acides aminés. Pour Moureau, treponema refringens serait "vraisemblablement identique" au treponema Reiter ce qui, nous le verrons, est peu probable.

d- Pouvoir pathogène

Il a fait l'objet de nombreuses controverses. Un récent article de Reiter fait le point de la question (30).

6) TREPONEMA PALLIDUM

a- Historique des isolaments

Le tréponème pâle pathogène n'a jamais pu être cultivé mais son obtention en culture pure est périodiquement annoncée. Les cultures prétendues pures perdent rapidement tout pouvoir pathogène. C'est ce qui est arrivé, entre autre, des souches isolées plusieurs fois par Noguchi en 1911, 1912 et des tréponèmes isolés par Pickens et Reiter.

Les auteurs soit reconnaissent alors qu'un saprophyte banal a prévalu au cours de l'isolement, soit persistent à penser qu'ils ont obtenu une souche mutante, provisoirement ou définitivement apathogène, du véritable *treponema pallidum*.

Le tréponème pâle, comme nous le décrivons ici, est le tréponème pâle pathogène tel qu'on peut le voir *in vivo*. Or, on sait à quel point la culture modifie l'aspect d'un germe.

b- Morphologie

8 à 14 μ de long au microscope électronique et 0,25 à 0,3 μ de large. Il est spiralé avec des spires distantes d'environ 1 μ , très régulières.

c- Physiologie

C'est un anaérobie strict.

d- Pouvoir pathogène

Il est inutile de rappeler ici les diverses formes de la maladie syphilitique et des autres tréponématoses. Nous avons étudié ici quelques sérums provenant soit de syphilitiques, soit de pianiques, soit de malades atteints de Pinta.

III - CLASSIFICATION ET NOMENCLATURE DE CES GERMES

Les études de physiologie bactérienne appliquées à ces germes ont été, nous l'avons vu, rarement pratiquées. Leur classification repose donc presque entièrement sur leur morphologie et leurs affinités tinctoriales. Le fréquent remaniement de ce paragraphe de la classification des germes, le flottement de la nomenclature reflètent la fragilité des critères retenus.

En ce qui concerne la nomenclature, il suffit de se pencher sur des ouvrages de synthèse. Nous ne citerons que quelques passages, notamment de l'ouvrage de A. Petit (24) sur les spirochétidés. A propos de *treponema minutum* (Levaditi et Stancosco 1909) : ... "Brumpt remarque que, ayant été employé antérieurement pour une espèce libre, l'adjectif *gracilis* doit tomber en synonymie. D'autre part, Dobell (1912) a décrit chez un crapaud le *treponema minutum* et Castellani (1916) a observé à Ceylan, chez des sujets atteints de rhinopharyngite, le *spirochaudinnia minuta*. Brumpt propose de dédier à Levaditi le *spirochaeta gracilis* qui deviendra le *treponema Levaditi*. Dans son livre sur la syphilis, Noguchi a transformé le *treponema minutum* en *treponema genitalis*"... Dans le même ouvrage, on trouve plus loin :" *Treponema rhinopharyngeum*, synonyme *treponema minutum*, Castellani 1916"...

La situation n'est pas moins complexe pour *treponema refringens*. On a vu l'opinion de Noguchi sur ce sujet. C'est probablement ce jeu des assimilations successives qui a conduit R. Prévot à écrire, dans le "Manuel de Classification des Bactéries Anaérobies" (1957) : "Le sérum de syphilitique immobilise la souche Reiter de *treponema refringens* (réaction des immobilisines)....(29).

Il est certain que ce jeu des synonymies et homonymies finit par cacher ou trop, ou trop peu, d'espèces véritables.

La classification de ces germes souffre autant que leur nomenclature. Nous signalerons, pour mémoire, le flou qui a régné aux frontières séparant les spirilles des spirochètes (ces deux termes ont été proposés par Ehrenberg en 1933 et 1938 (8 bis). La classification des spirochétidés a été plusieurs fois remaniée (Vuillemin, 1905, Noguchi, 1918).

Nous nous contenterons de signaler 3 modes actuels de classification :

- Celles de Prévot (29) et de Bergey (4) sont relativement voisines : Bergey parle de l'ordre des spirochetales, Prévot de la classe des spirochetales. Tous deux distinguent 2 familles :

- 1) les spirochetaceae : formes longues, libres, marines, aérobies (Prévot); structure protoplasmique définie (Bergey)
- 2) les treponemataceae (treponemaceae pour Prévot qui trouve le terme plus euphonique); formes courtes, parasites (Prévot); pas de structure protoplasmique définie (Bergey). Cette dernière famille comprend 3 genres distingués par leurs affinités tinctoriales et leur comportement vis-à-vis de l'oxygène :
 - a- les *Borrelia* sont aisément colorés par les colorants d'aniline
 - b- les *leptospira* et les *treponema* ne sont colorés que par le giemsa ou l'imprégnation argentique mais ceux-ci sont anaérobies, alors que ceux-là sont aérobies.

Treponema refringens et *treponema phagedenis* sont placés parmi les *Borrelia* dans les deux classifications, *calligyra* dans les *treponema*. Quant à *minutum*, il figure, dans le Bergey, sous le vocable de *genitalis* et, dans le Prévot, sous celui de *minutum*. Tous deux le classent dans les *treponema*. Le *treponema Reiter*, probablement considéré comme un *treponema pallidum*, n'est pas signalé.

- Le troisième essai de classification est dû à Babudieri (1) qui a pris comme critère la morphologie de ces germes telle qu'elle apparaît au microscope électronique. Il distingue :

- 1) la famille des *saprospiraceae* dont les germes sont munis de septa

2) la famille des spirochetaceae dont les germes sont dépourvus de septa.

Il sépare, au sein de cette dernière :

- a- les germes munis d'axostyle avec flagelle (un hypothétique genre spirocella) ou sans flagelle avec grains de volutine (ce sont les spirochaetes) ou sans grains de volutine (ce sont les leptospires)
- b- les germes dépourvus d'axostyle :
 - avec crista et flagelles (tréponèmes)
 - avec crista sans flagelles (les hypothétiques critispirella)
 - sans crista (les trichospira).

D - TECHNIQUES EXPERIMENTALES

I - MILIEUX DE CULTURE

Les germes sont cultivés sur milieu semi-synthétique liquide de type Brewer avec une formule légèrement modifiée. Aux digestat pancréatique de caséine, autolysat de levure, glucose, cystéine, acide thioglycolique sont venus s'ajouter du tween, du phosphate de sodium disodique et du carbonate de sodium (27). Ce milieu est conditionné en tubes munis de bouchons à vis. Il est enrichi, juste avant l'ensemencement, par 20% de sérum de lapin, préalablement filtré et chauffé 24 heures à 56°C et 7 jours à 37°C.

Toutes nos souches sont entretenues sur ce milieu et repiquées tous les 4 à 5 jours. Pour 20 ml. de milieu au sérum par tube, l'inoculum est voisin du millilitre. La fréquence des repiquages, l'importance de l'inoculum, le taux de sérum introduit ont été précisés compte tenu des besoins et de la cinétique de développement des espèces mais aussi en fonction de la survenue relativement fréquente de contaminations par des germes de type corynebacterium anaérobies apportés par le sérum, correctement filtré.

En vue, non plus de l'entretien systématique des souches, mais de la production en quantité appréciable de suspensions de germes ou de solutions antigéniques, la culture se fait en ballons de 2000 cc., clos par un tampon de coton et un bouchon de caoutchouc. Le sérum de lapin destiné aux cultures en ballons est filtré immédiatement avant l'emploi pour éliminer tant les contaminations qui auraient pu persister que le dépôt formé au cours du vieillissement. On incube les cultures à 37°C.

II - PREPARATION DES SOLUTIONS ANTIGENIQUES

Les germes sont récoltés au bout d'un temps variable avec l'espèce : une semaine pour treponema calligyra, refringens, minutum, six jours pour treponema Reiter, 5 jours pour treponema phagedenis. Ce délai est seulement

fonction du développement quantitatif des cultures et ne tient aucun compte du stade morphologique. Les germes sont récoltés par centrifugation à la Sharpless.

Les culots obtenus par centrifugation sont lavés 5 fois en solution tampon pH 7,2. L'étude des solutions tampons recueillies après lavage montre, aussi bien par fixation du complément que par diffusion en milieu gélifié, que certains constituants antigéniques du germe sont partiellement entraînés dans ces solutions. Cette solubilisation ne modifie pas la structure antigénique, une quantité suffisante d'antigène demeurant attachée au corps tréponémique. Le lavage a par contre l'avantage de diminuer le pouvoir anticomplémentaire de certaines préparations ou encore de révéler quelques antigènes profonds habituellement masqués.

Après un dernier lavage, les culots de germes sont repris dans un volume d'eau physiologique qui est, selon les espèces, de 50 à 150 fois plus petit que le volume initial de la culture.

Les produits ainsi obtenus constituent les "suspensions de germes intègres" lavés ou non lavés. Une fraction de cette suspension est conservée pour servir aux agglutinations; le reste est destiné à l'ultrasonation.

L'ultrasonation a pour but de dissocier finement les structures bactériennes, d'amener une solubilisation au moins partielle des substances antigéniques et de les présenter sous une forme plus diffusible en gels.

Ce résultat est obtenu à l'aide d'un générateur qui, par l'intermédiaire d'un projecteur d'ultrasons à magnéto-striction, fournit, avec une fréquence de vibration de 19,4 kHz, une intensité acoustique, dans l'eau, de 5,18 watts par cm². La section de la barre de projection présente une superficie de 9,65 cm². Pour éviter l'échauffement, on maintient les vases dans des bains à 0°. Pour pallier aux phénomènes d'oxydation, provoqués par l'effet de cavitation suscité par les ultra-sons au sein

des liquides, un courant d'hydrogène est instauré quelques minutes avant l'opération et maintenu pendant la durée de celle-ci.

De précédents travaux ont montré (25) qu'il convient de porter la suspension à un pH alcalin avant de pratiquer l'ultrasonation; on obtient alors une meilleure solubilisation des constituants antigéniques. L'action des ultra-sons est poursuivie de 10 à 30 minutes selon le volume traité qui peut ainsi varier de 10 à 100cc.

Le résultat obtenu est une disparition des éléments bactériens figurés, totalement dissociés en particules très petites plus ou moins réfringentes et que le mouvement brownien agite vivement. Cette suspension, neutralisée, constitue la "suspension de tréponèmes ultrasonnés", "ultrasonnat de tréponème" ou "préparation antigénique de tréponème".

Toutes nos préparations sont merthiolatées à 1/5000 et conservées à +4°.

III - OBTENTION DES IMMUNISERUMS

Les suspensions antigéniques destinées à l'immunisation des animaux sont obtenues par centrifugation de cultures âgées de cinq à sept jours selon les espèces. Les culots sont repris dans un volume d'eau physiologique dix fois inférieur au volume initial de la culture pour tous nos tréponèmes sauf pour *treponema minutum* dont la concentration est de 20 fois la culture. Les suspensions sont conservées en ampoules, congelées à -25°C, jusqu'au jour de l'injection qui est faite, au lapin, dans la veine de l'oreille.

Le protocole d'immunisation comprend 3 injections de 1/2cc., 6 injections de lcc. et, après une semaine de repos, une injection de rappel de lcc. Une semaine après l'injection de rappel, l'animal est saigné à blanc à la carotide. Le sérum, décanté après formation du caillot, est filtré pour stérilisation, mis en ampoule et conservé à +4°C jusqu'à l'utilisation.

IV - TECHNIQUES SEROLOGIQUES

1) L'agglutination

Les suspensions de germes destinées à l'agglutination sont préparées à partir de formes tréponémiques spiralées. Elles sont soigneusement homogénéisées par agitation, puis filtration sur filtre de verre fritté N°2. La densité photométrique des suspensions utilisées ici est égale à deux fois la densité photométrique de la suspension de germes utilisée pour le séro-diagnostic des salmonelloses.

L'agglutination est conduite en tubes, pendant 2 heures, au bain-marie à 37°C. La lecture est faite au miroir de Kahn.

2) La diffusion en milieu gélifié

Elle est poursuivie selon la technique de diffusion double en cuve. Nous utilisons des cuves de 1mm. d'épaisseur et une gélose purifiée Difco-Bacto-agar en poudre. Les réactifs, purs, sont introduits dans la cuve, gélosés à la moitié de leur volume par une gélose à 2,5% assurant une concentration finale, en gélose, voisine de 0,8%. Immunsérum et antigène gélosés sont séparés par une épaisseur de gel vierge de 0,8cm. La gélose est merthiolatée comme le sont les réactifs à 1/5000 avant introduction.

Les cuves, obturées à la cire vierge, sont déposées horizontalement en atmosphère humide et à température constante : 22°C, pendant la durée de la précipitation. Celle-ci se produit en totalité entre le deuxième et le dixième jour.

Discussion de la valeur de ces techniques

Les deux techniques précédentes, agglutination et précipitation en milieu gélifié, présentent, appliquées aux problèmes qui nous préoccupent, un certain nombre d'inconvénients qu'il nous a paru intéressant de préciser.

a) L'agglutination

Appliquée comme un moyen parmi d'autres d'introduire, entre les espèces, des éléments de discrimination, elle s'est révélée inapte à fournir les renseignements que l'on était en droit d'espérer, ceci en raison d'un pouvoir agglutinant des sérums particulièrement élevé quelle que soit l'espèce utilisée comme antigène. Ce pouvoir agglutinant spontané des sérums à l'égard de diverses souches de tréponèmes avait déjà été remarqué par Kolmer avec des sérums humains et des sérums de lapin normaux (9,10). Mêmes remarques chez Berck (2) et chez Robinson et Wichelhausen (31). Ce pouvoir agglutinant se manifeste également dans nos cultures dont il gêne le développement, les premiers jours surtout.

Il a été supprimé par absorption des anticorps responsables à l'aide de treponema Reiter pris comme antigène. Kolmer a pu ainsi éliminer le pouvoir agglutinant in vitro des sérums normaux à l'égard de certains tréponèmes buccaux(10) et J. Pillot a considérablement diminué, par le même procédé, le pouvoir agglutinant en culture des sérums normaux ajoutés au milieu de Brewer (27).

Ce pouvoir agglutinant pourrait être lié à l'immunisation naturelle de l'animal ou de l'homme par des saprophytes banaux, oraux ou génitaux, de structure antigénique voisine des espèces que nous étudions. Il semble présenter, nous le verrons plus loin, quelques rapports avec un pouvoir précipitant des sérums également spontané, révélé par précipitation en gel.

L'agglutination, en raison de ces défauts, ne pouvait rivaliser d'intérêt avec la fixation du complément et la précipitation en gel.

b) La précipitation en gel

Cette technique nous a largement aidé à préciser l'étendue des communautés antigéniques et le nombre des systèmes en cause.

Cependant elle n'est pas, appliquée à ce genre d'étude, exempte de critiques. Il nous a paru intéressant de les exposer ici :

- 1) les images sont difficiles à déchiffrer, d'une part en raison de la complexité des communautés antigéniques entre certaines espèces, d'autre part et surtout en raison de la nature polydispersée de la plupart des antigènes en cause.
- 2) les raies floues, étalées, fournies par les antigènes se chevauchent, se recouvrent et sont particulièrement sujettes à donner des artéfacts. Les principaux d'entre eux sont liés :
 - à un éclaircissement des gels par les réactifs diffusants, plus spécialement les immunsérums. Une "raie" non spécifique finit par persister à la partie médiane de la zone de gel vierge. Son aspect peu dense, flou, la rapproche considérablement des raies spécifiquement obtenues.
 - à une précipitation non spécifique de certains sérums avec la gélose, principalement des sérums vieillis ou des sérums instables comme le sont les sérums humains syphilitiques.
 - au fait que ces raies larges et étalées subissent fréquemment, en fin d'évolution, une résolution en plusieurs fausses raies dont l'ensemble se substitue à l'unique raie primitive. De telles raies, apparues secondairement, ne correspondent pas, à notre avis, à une multiplicité des systèmes antigéniques.
 - enfin au fait que ces raies empâtées ne restent pas indifférentes lorsqu'elles sont traversées diagonalement par une autre raie. Il se produit fréquemment une malformation, ou une dissolution du précipité, phénomène qui isole des fragments de raies, difficiles ensuite à rattacher avec certitude les uns aux autres.

En outre, en dehors de tout artéfact, le peu de précision de ces raies rend parfois hésitante l'étude de leur comportement.

Pour pallier à ces inconvénients, des procédés de simplification des images sont possibles par épuisement des immunsérums, hydrolyse, séparations électrophorétiques des antigènes. Leur emploi nous a paru ici disproportionné.

3) La fixation du complément

Nous utilisons la fixation du complément en plaques de plexiglas alvéolées en présence de 3 unités hémolytiques 50%. L'incubation est faite pendant une heure à 37°C.

On introduit dans les alvéoles 0,05 cc. de tous les réactifs, dilués, les globules rouges à 4%, le sérum hémolytique à 1/5000.

Pour l'incubation à 37°C, les plaques alvéolées sont déposées à l'étuve entre 2 plaques d'aluminium destinées d'une part à rendre l'échauffement homogène, d'autre part à éviter les phénomènes de dessiccation.

4) Les épuisements

Afin de vérifier les résultats obtenus par fixation du complément et diffusion en gel, nous avons procédé à certains épuisements d'anticorps.

On détermine tout d'abord le rapport optimum en antigène et anticorps pour la fixation du complément. La préparation antigénique et l'immunsérum sont alors dans un certain rapport quantitatif. C'est ce même rapport de réactifs qui est utilisé pour l'épuisement.

Les réactifs introduits dans un rapport désiré, l'épuisement débute par un séjour d'une demi-heure à 37°C. L'antigène est ensuite éliminé par centrifugation et l'épuisement est parachevé par une nouvelle et même quantité d'antigène frais au cours d'un séjour d'une nuit à +4°C. Le mélange est enfin centrifugé afin d'éliminer soigneusement toute trace d'antigène épuisant.

E - R E S U L T A T S

I - CRITERES NON SEROLOGIQUES DE DIFFERENTIATION DES ESPECES

Notre but était d'établir une comparaison entre ~~des~~ espèces de tréponèmes anaérobies par des techniques essentiellement sérologiques.

Nous avons cependant, sans vouloir en approfondir l'étude, noté, au cours de l'entretien systématique des souches, les différences morphologiques, culturelles ou évolutives qui ont attiré notre attention. Certains de ces caractères sont communs à l'ensemble des espèces étudiées : ce sont eux que nous verrons d'abord.

1) CARACTERES COMMUNS A TOUTES LES ESPECES

a- Caractères morphologiques

Morphologie et mensuration de ces germes ont fait l'objet de trop d'études pour que nous ayons cru nécessaire de revenir sur ces questions. Nous nous contenterons des chiffres donnés par les précédents auteurs et rapportés dans la partie historique.

D'ailleurs, nous avons pu constater, sur *treponema* Reiter, la grande variabilité des critères morphologiques en fonction des conditions culturelles. Le simple changement dans l'origine animale des sérums ajoutés aux milieux de culture entraîne la modification d'aspect des formes spiralées comme des formes vésiculaires. Les formes spiralées cultivées en présence de sérum de porc apparaissent très nettement plus fines que celles cultivées en présence de sérum de lapin. Elles sont plus longues cultivées en présence de sérum de cheval qu'en présence de sérum de lapin. Les formes vésiculaires obtenues en présence de sérum de cheval sont de dimensions beaucoup plus grandes que celles obtenues en présence de sérum de lapin.

Certaines particularités anatomiques ont paru être intéressantes. C'est ainsi que l'on aperçoit clairement, au microscope à fond noir, chez toutes nos espèces et principalement dans les cultures vieillies, âgées de quelques semaines, de très fins filaments en forme de flagelles. Quelques-uns sont libres dans le milieu mais la plupart sont fixés aux germes, le plus souvent en extrémité, soit latéralement, soit dans le prolongement du corps tréponémique. Il en est de parfaitement spiralés, rigides, de longueur variable mais dépassant rarement la longueur moyenne des germes; il en est d'autres longs, atteignant le double de la longueur moyenne des

germes, très souples et constamment déformés par le mouvement brownien, ce qui leur confère une apparente mobilité. Les germes sont fréquemment réunis deux à deux par ces filaments.

L'existence de ces organites avait déjà été notée par Noguchi qui les fait figurer sur la plupart de ses schémas et en fait des flagelles. Les auteurs qui, postérieurement, ont signalé ces formations ne sont pas d'accord sur leur signification physiologique : tronçon de périplasme subsistant, étiré, après la division transversale (40), débris de cette structure fibrillaire fragile (16) décrite par les auteurs ou véritables flagelles?

Quoi qu'il en soit l'existence de ces formations rend illusoire toute discussion sur la présence de véritables flagelles chez ces espèces avec l'argument du seul microscope optique. Elle complique déjà singulièrement l'interprétation des images obtenues à l'aide du microscope électronique.

Nous avons noté au fond noir la présence de formes très particulières dont nous n'avons trouvé la description nulle part. Elles apparaissent au fond noir comme elliptiques ou ovalaires, jamais circulaires, dessinées par un trait d'une minceur extrême et très brillant, circonscrivant une surface optiquement vide. Ces formes sont constamment déformées et modelées par le mouvement brownien. Nous n'avons encore aucune idée sur leur signification. Nous avons pu seulement constater que l'agitation vive d'une culture en multiplie le nombre.

b- Caractères cultureux

Toutes ces espèces poussent bien mais inégalement dans le milieu que nous avons choisi. Si *treponema Reiter* et surtout *treponema phagedenis* envahissent en 2 ou 3 jours la totalité du milieu, les autres espèces voient leur pousse débiter plus tardivement. Elle est suffisante pour *treponema refringens*, faible pour *treponema minutum* et *treponema calligra*.

De plus toutes ces espèces poussent, dans notre milieu, très agglutinées. Le phénomène est particulièrement net en ce qui concerne *treponema calligyra*. Il est donc certain que le milieu pourrait, si cela présentait un intérêt quelconque, être plus étroitement adapté aux besoins particuliers de chaque espèce (par modification de la teneur en substances réductrices, par la recherche de sérums animaux peu agglutinants, etc...).

Au bout de quelques jours, débute une sédimentation des cultures qui éclaircit le milieu. Toutes nos cultures présentent alors une zone inférieure dense qui persistera quelques semaines (alors que la partie supérieure du tube est totalement éclaircie) et occupe une hauteur qui est d'environ 4 à 6 cm. au fond du tube. Elle disparaîtra à son tour par éclaircissement, progressif ou rapide selon les espèces, pour céder la place à un culot très dense au fond du tube.

Si l'on étudie au microscope cette zone dense, de quelques centimètres de haut, on constate qu'elle s'appauvrit progressivement en germes tout en perdant relativement peu de sa densité microscopique. Elle finit par ne plus révéler microscopiquement qu'un contenu fait de très petits amas, amorphes, extrêmement nombreux. On retrouve ce sédiment lors de la centrifugation des milieux, l'expérience nous l'a montré, sous la forme d'une pâte translucide brune qui semble provenir de la dénaturation des substances du milieu de culture, probablement du sérum.

Processus évolutif

En début de culture on ne trouve, dans les premières heures, que des éléments mobiles spiralés. On est en droit de supposer que les très rares éléments vésiculés que l'on rencontre proviennent de l'inoculum. Très tôt apparaissent des vésicules. Ces dernières, libres ou fixées au germe, finissent, après quelques jours de culture, par constituer une part appréciable de la population bactérienne. Comme elles proviennent de la transformation d'éléments spiralés et qu'elles sédimentent peu après leur apparition, le milieu s'appauvrit peu à peu en éléments bactériens.

On retrouve les vésicules dans le culot où elles forment une population hétérogène quant à leur aspect morphologique et probablement aussi quant à leur mode de formation et leur signification physiologique. Elles présentent une gamme de tailles continue de 1-2 μ à 8-10 μ où l'on peut cependant distinguer trois grandes catégories d'éléments. Les plus petits sont des grains très denses; plus volumineux sont des corps d'apparence circulaire qui sont tantôt des sphères, tantôt des cercles véritables ayant l'épaisseur d'un corps tréponémique. Ces formes sont soit optiquement vides, soit porteuses d'un nombre très variable de corpuscules de petite taille, très denses, groupés au hasard à l'intérieur de la vésicule. Ces vésicules portent parfois en appendice un corps tréponémique spiralé plus ou moins long. On trouve enfin une catégorie d'éléments analogues mais plus gros et atteignant 10 μ . On peut parfois déceler à l'intérieur un mouvement brownien agitant les minuscules et rares corpuscules qu'ils peuvent contenir. Certains d'entre eux sont tapissés de formes spiralées sans que l'on puisse déterminer, à l'aide du microscope, si c'est intérieurement ou extérieurement.

A côté de ces volumineuses vésicules, nous signalerons des formes de taille analogue que certains auteurs qualifient de "vésicules germinatives" en raison de la place qu'ils pensent pouvoir leur attribuer dans un éventuel cycle évolutif. Elles ressemblent à de très grosses vésicules portant des prolongements radiculaires ramifiés, les plus fines radicules ayant à peu près l'épaisseur d'un corps tréponémique spiralé.

2) CARACTERES SPECIFIQUES DIFFERENTIELS

Aux caractères communs que nous venons de voir, vient se superposer un certain nombre de caractères différentiels, spécifiques, portant essentiellement sur l'évolution macroscopique et microscopique des cultures, la vésiculation, la mobilité.

a- Treponema calligyra

La pousse est macroscopiquement visible dès le deuxième jour suivant l'ensemencement. Elle débute à 4cm. environ de la surface du liquide, sur une hauteur de 3cm. Puis le fond du tube lui-même se trouble et la pousse atteint son maximum entre les cinquième et sixième jours. Ensuite la culture sédimente fortement et s'éclaircit peu à peu. Au bout de 3 semaines, la sédimentation est achevée.

Treponema calligyra agglutine spontanément dans nos milieux, probablement en raison de la présence d'agglutinines dans les sérums de lapins normaux que nous utilisons. La formation de ces agglutinats dans les cultures explique la sédimentation rapide de ce germe.

Au septième jour, ces germes sont en majorité spiralés et mobiles. Les vésicules, de petite taille, commencent à apparaître en nombre appréciable au-delà du dixième jour. Cette vésiculation, quoique atteignant une majorité de germes, laissera persister des formes spiralées, normales ou porteuses de vésicules. Elle n'aura jamais le caractère massif qui caractérisera la vésiculation de treponema Reiter ou de treponema phagedenis.

Lorsque la culture est macroscopiquement sédimentée, on constate qu'il demeure, dans le haut des tubes, de rares germes dont une forte proportion restera vivante fort longtemps (jusqu'à 4 mois à 37°C, dans quelques cas!). Les culots sont constitués d'amas de formes spiralées et vésiculées très altérées. Après 5 à 6 mois à 37°C, les germes en culture sont généralement lysés.

La mobilité de treponema calligyra n'est jamais très grande dans nos milieux. Ce germe n'a pas la vivacité de mouvement de treponema phagedenis ou de treponema refringens. Elle diminue encore par vieillissement jusqu'à devenir très atténuée en cultures âgées.

Cette mobilité est complexe, rotatoire et ondulatoire.

b-- Treponema refringens

Comme pour *treponema calligyra*, la pousse débute à quelques centimètres de la surface sur une hauteur de 3 à 4 cm., respectant la zone d'aérobiose relative proche de l'interface air-milieu. Elle atteint son maximum au quatrième jour. La sédimentation devient alors visible. Il se forme, au fond du tube, sur une hauteur de 4 à 5 cm., une zone plus dense, au détriment de la partie supérieure de la culture qui s'éclaircit peu à peu entre la deuxième et la quatrième semaine. Vers la dixième semaine, la zone dense inférieure a disparu à son tour et il ne reste qu'un épais culot au fond du tube.

Treponema refringens agglutine, lui aussi, mais moins fortement que *treponema calligyra*. Celui-ci fournit en majorité de petits amas alors que *treponema refringens* pousse en culture dispersée au sein de laquelle apparaissent quelques gros amas.

En culture, à la fin de la première semaine, les germes sont en majorité spiralés et mobiles; leur nombre baisse ensuite rapidement. La moitié d'entre eux sont encore vivants à la troisième semaine; à la sixième semaine la plupart d'entre eux sont morts. Les formes sont encore spiralées mais très altérées avec un cytoplasme fragmenté. Parallèlement, on trouve, dans les culots où elles ont sédimenté, des vésicules apparues dès la première semaine de culture. Leur nombre croît avec le vieillissement de celle-ci mais l'aspect des lames microscopiques n'est jamais uniforme : il persiste des formes spiralées, mortes, au côté des formes vésiculées.

Ces vésicules de *treponema refringens* paraissent plus grosses que celles fournies par *treponema calligyra*. Elles appartiennent à cette catégorie de taille moyenne, définie plus haut, dont elles réalisent tous les types morphologiques. Elles atteignent 6 à 8 μ , rarement plus.

Dans les cultures très âgées (quelques mois), persistent encore, dans la partie supérieure du tube, quelques formes spiralées en longues chaines. Après 5 mois, quelques rarissimes germes sont encore mobiles.

Au-delà, il y a dégénérescence complète des cultures : les surnageants sont déshabités et les culots ne sont plus constitués que de gros agglutinats où les formes vésiculées prédominent sur les formes spiralées, courtes et altérées.

La mobilité de *treponema refringens* en culture jeune est caractéristique. Elle est faite d'un mouvement très vif des extrémités avec des ondulations lentes du corps.

c- Treponema minutum

Morphologiquement, *treponema minutum* est déjà différent des autres spirochètes étudiés ici. Nettement plus fin, il est aussitôt reconnu sous le microscope. La plupart des individus sont effectivement munis, aux extrémités, d'un crochet que Moureau et Quintini attribuent à la présence de flagelles (16).

La culture confirme l'individualité de cette espèce. Ce germe pousse mal dans nos milieux, meurt et sédimente rapidement. La pousse débute sur le même mode que pour les deux germes vus précédemment, à quelques centimètres de la surface sur une hauteur de deux à trois centimètres. Elle s'uniformise ensuite sur toute la hauteur du tube, augmente jusqu'à la fin de la première semaine, puis s'éclaircit par sédimentation. A la fin de la deuxième semaine, la culture est déjà réduite à une zone dense de 4 à 5 cm. de haut occupant le fond du tube. Celle-ci disparaît à son tour vers la troisième ou quatrième semaine pour ne laisser subsister qu'un maigre culot. Au 14ème jour, les germes vivants sont déjà rares. Au-delà leur nombre devient insignifiant mais il en persistera longtemps quelques-uns et l'on peut encore en trouver dans des cultures ayant séjourné 2 mois à 37°C.

A côté de ces formes vivantes persistant dans le surnageant, on trouve encore des germes morts disposés en longues chaînes. Ils se font de plus en plus rares avec le vieillissement de la culture au profit de formes vésiculées qui sédimentent en culot. Celui-ci est constitué par un réticule de formes spiralées en très longues

chaines, enserrant dans ses mailles des vésicules de taille très variable allant du granule à l'énorme sphère (8 - 10 μ).

L'originalité de cette population de formes vésiculaires, par rapport aux populations similaires issues de cultures de *treponema calligyra* et de *treponema refringens*, c'est la présence en plus grand nombre de très gros éléments, optiquement vides, à l'intérieur desquels on peut parfois distinguer un mouvement brownien montrant à l'évidence l'état liquide du contenu.

La mobilité de ce germe est également particulière : le corps tréponémique, rigide, semble tourner sur lui-même, entraînant une rotation des extrémités.

d- Treponema phagedenis

Treponema phagedenis est le germe qui pousse le plus abondamment dans nos milieux de culture. Il est aussi le seul de ces germes à pousser sur milieu VF.

Au troisième jour déjà, la culture, dense, occupe toute la hauteur du tube. Elle s'épaissit encore jusqu'à la fin de la première semaine, puis commence à sédimenter, présentant alors ce phénomène décrit plus haut qui dispose dans les tubes des zones étagées d'inégale densité. La sédimentation fait apparaître au fond des tubes une zone de 5cm. de haut qui peut devenir très dense. Elle persiste fort longtemps, s'éclaircissant à peine. Au bout de trois mois, elle n'est plus, en réalité, constituée de corps tréponémiques mais de produits de dénaturation des milieux.

La vésiculation de *treponema phagedenis* est précoce et massive. Les culots contiennent un pourcentage de formes vésiculées extrêmement élevé. Les formes spiralées persistantes sont trop courtes et trop rares pour s'organiser en réseau. Il se forme cependant des agglutinats importants de vésicules. Celles-ci présentent toute la gamme des tailles, y compris de grandes formes, probablement sphériques. Contrairement aux formes géantes des vésicules de *treponema minutum* dont la plupart sont optiquement vides, les très grosses vésicules de *treponema*

phagedenis contiennent en majorité de nombreux corpuscules denses répartis au hasard. Elles sont de plus fréquemment tapissées de formes spiralées.

Treponema phagedenis agglutine également dans nos milieux sur le même mode que treponema refringens, c'est-à-dire quelques gros flocons au sein d'une culture relativement dispersée.

c- Treponema Reiter

Nous pourrions reprendre, à propos de treponema Reiter, l'essentiel de ce que nous avons dit à propos de treponema phagedenis.

Treponema Reiter pousse un petit peu moins abondamment, il présente le même type d'évolution vers des formes vésiculaires numériquement prépondérantes. La population vésiculaire paraît identique à celle de treponema phagedenis à quelques détails près (que l'on doit négliger, si l'on songe à la variabilité de structure de ces populations et d'aspect de leurs éléments en fonction des conditions de culture et notamment des sérums utilisés).

Le type de mobilité paraît identique. Les morphologies elles-mêmes sont très voisines. Treponema phagedenis paraît parfois plus épais que treponema Reiter.

En bref, les deux germes sont difficiles, sinon impossibles à distinguer l'un de l'autre par leurs caractères cultureux et morphologiques.

CONCLUSION

Ce bref aperçu incident sur la morphologie, la mobilité, les caractères cultureux de ces cinq germes révèle, entre les espèces, certaines corrélations et certaines différences.

Treponema Reiter et treponema phagedenis paraissent très proches. Ils sont en tous points difficiles à distinguer.

Treponema minutum présente une individualité très marquée tant par sa morphologie que par ses faibles rendements dans nos milieux.

Treponema refringens et *treponema calligyra*, morphologiquement plus proches de *treponema Reiter* et de *treponema phagedenis*, s'en distinguent cependant. Le rendement pondéral des cultures est plus faible. Ils évoluent moins massivement vers les formes vésiculées et leur mobilité est aisément reconnaissable. Ce dernier caractère permet encore de les distinguer l'un de l'autre. Rappelons d'ailleurs que Moureau, grâce au microscope électronique, pense pouvoir les distinguer sûrement l'un de l'autre puisque *treponema refringens* posséderait des flagelles dont *treponema calligyra* serait dépourvu.

II - CRITERES SEROLOGIQUES DE DIFFERENTIATION DES ESPECES

Une étude des caractères cultureux et morphologiques, tant ceux historiquement attribués à ces germes que ceux que nous avons pu constater nous-même, nous a permis de distinguer trois groupes comprenant :

- le premier, un germe très à part en raison de la pauvreté de son développement dans notre milieu et de la finesse de son corps
- les deux autres, des germes peu différents au point de vue morphologique mais dont les uns (*treponema Reiter* et *treponema phagedenis*) poussent bien dans nos milieux, alors que les autres (*treponema refringens* et *treponema calligyra*) poussent beaucoup moins abondamment.

L'étude de ces germes par des techniques sérologiques nous a apporté assez d'arguments pour maintenir ces cadres et fournir d'importantes précisions concernant l'étendue et la nature des parentés antigéniques existant entre ces diverses espèces.

Elle a permis en outre d'opposer, à la richesse des communautés constatées entre les cinq espèces saprophytes, la pauvreté des communautés entre ces espèces et *treponema pallidum*.

Enfin, nous avons mis en évidence, dans les sérums de sujets normaux, un anticorps précipitant qui réagit de façon particulièrement nette avec l'un des antigènes de *treponema phagedenis*.

1) ETUDE, PAR DES TECHNIQUES DE FIXATION DU COMPLÉMENT, DES COMMUNAUTÉS ANTIGÉNIQUES EXISTANT ENTRE CES GERMES

Dans le tableau N° 1, nous avons résumé les résultats des réactions de fixation du complément au sein des couples antigéniques homologues et hétérologues.

Les antigènes ont été utilisés sous la forme "germes ultrasonnés" (cf. technique expérimentale). Le titre antigénique des diverses préparations étant d'autant plus élevé que les germes correspondants poussent mieux dans nos milieux, nous avons repris nos germes dans un volume de tampon d'autant plus petit par rapport au volume initial de culture que notre germe poussait mal (*treponema phagedenis* : 50 fois la culture en volume, *treponema minutum* : 150 fois la culture, *treponema Reiter*, *calligyra* et *refringens* : 100 fois la culture).

Le couple le plus évident est constitué par les deux germes : *treponema phagedenis* et *treponema Reiter*. Les antisérums correspondant à ces deux germes croisent avec les ultrasonnats des espèces extérieures à ce groupe mais la fixation homologue et hétérologue est beaucoup plus énergique au sein du groupe. Toujours au sein du groupe, la réaction de fixation du complément la plus sensible est obtenue avec les préparations antigéniques de *treponema phagedenis* opposées à l'antisérum homologue.

Un deuxième groupe évident est constitué par les deux germes *treponema refringens*-*treponema calligyra*. Les réactions croisées entre ces deux germes sont mieux marquées qu'entre eux et les espèces voisines. Les réactions hétérologues hors du groupe sont d'ailleurs relativement peu marquées. Au sein même de ce groupe, la réaction hétérologue intéressant *treponema calligyra* ultrasonné et l'immunsérum anti-*refringens* se distingue des autres réactions par un abaissement en sensibilité.

Tous nos immunsérums fixent faiblement le complément avec l'ultrasonnat de *treponema minutum*; l'immunsérum anti-*treponema minutum* ne fixe le complément de manière significative qu'avec l'ultrasonnat homologue.

Plaques C' 1/47	Fixation C' 1h. 37°	treponema phagedenis 50 fois la cult.	treponema Reiter 100 fois la cult.	treponema refringens 100 fois la cult.	treponema calligya 100 fois la cult.	treponema minutum 150 fois la cult.	TREP. REITER					TREP. PHAGED.					TREP. REFRING.					TREP. CALLIG.					TREP. MINUTUM					Témoins séruns	
							US	1/15	1/45	1/135	1/405	1/810	US	1/15	1/45	1/135	1/405	1/810	US	1/15	1/45	1/135	1/405	1/810	US	1/15	1/45	1/135	1/405	1/810	US		1/15
Imm.s. anti trép. Reiter	1/15	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/45	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/135	+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/405	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/810	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1
Imm.s. anti trép. phaged.	1/15	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/45	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/135	+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/405	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/810	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	-	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
Imm.s. anti trép. réfring.	1/15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	1/45	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	1/135	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	1/405	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
	1/810	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	1
Imm.s. anti trép. callig.	1/15	1	2	3	2	2	2	2	2	2	2	+	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/45	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	+	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	
	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/405	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/810	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Imm.s. anti trép. minutum	1/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/405	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/810	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
témoin anti- gènes	1/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/405	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	1/810	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

TARLEAU N° 1

2) EPUISEMENTS DES ANTICORPS CONTENUS DANS LES
DIVERS IMMUNISERUMS PAR LES DIVERS GERMES INTEGRES

Les résultats ont été résumés dans les tableaux suivants :

- Le tableau N° II montre :

- que treponema Reiter paraît incapable d'épuiser totalement un sérum anti phagedenis des anticorps que celui-ci contient contre treponema phagedenis
- que treponema phagedenis fait au contraire disparaître, d'un sérum anti Reiter, tout anticorps contre treponema Reiter
- que treponema phagedenis fait disparaître, d'un sérum anti Reiter, tous les anticorps correspondant aux systèmes antigéniques communs entre treponema Reiter, treponema refringens, treponema calligyra, treponema minutum
- que treponema Reiter au contraire, épuisant un sérum anti phagedenis, n'abaisse que partiellement la sensibilité de la fixation du complément entre le sérum anti treponema phagedenis et les ultrasonnats de treponema refringens. Dans le même cas, les anticorps communs entre treponema phagedenis et treponema calligyra sont, par contre, totalement épuisés.

- Sur le tableau N° III nous avons porté les résultats obtenus lors de l'épuisement d'un sérum anti treponema refringens par treponema calligyra et d'un sérum anti treponema calligyra par treponema refringens. On assiste, dans les deux cas, à un abaissement de la sensibilité de la réaction de fixation du complément par l'anti-sérum ainsi épuisé réagissant avec le germe homologue. Dans aucun cas, il n'y a d'épuisement total. Hormis peut-être la disparition de toute fixation du complément entre treponema minutum et un sérum anti calligyra épuisé par treponema refringens, les autres résultats fournis par ce tableau ne sont pas significatifs.

- Dans les tableaux N° IV et V, figurent les résultats des épuisements des sérums anti treponema Reiter et anti treponema phagedenis par treponema refringens et treponema calligyra. On notera la fixation résiduelle, avec treponema refringens, des sérums épuisés par ce germe. Cette fixation, d'ailleurs exagérée par le pouvoir anti complémentaire

21

21

V 91

des préparations antigéniques, ne gêne pas l'interprétation des résultats. La fixation du complément, après épuisement par *treponema refringens*, garde un taux significatif avec *treponema Reiter* et *treponema phagedenis*. Quant à l'absence de fixation, après épuisement, avec les préparations antigéniques de *treponema calligyra*, elle n'en est que plus significative.

- Le tableau N°VI montre l'incapacité de *treponema refringens* et de *treponema calligyra* d'entraîner, par épuisement d'un sérum anti-*minutum*, une baisse de la sensibilité des réactions de fixation du complément entre *treponema minutum* et l'anti sérum correspondant.

Des résultats fournis par l'ensemble des épuisements pratiqués, on peut déduire :

- En ce qui concerne *treponema minutum* :
Ce germe a des systèmes propres, fixant le complément. Les mêmes antigènes sont communs entre lui et tous les autres germes étudiés ici. En effet n'importe quel germe épuise les anticorps que les sérums anti *treponema Reiter*, *phagedenis*, *calligyra*, *refringens* contiennent contre *treponema minutum*.
- En ce qui concerne *treponema Reiter* et *phagedenis* :
Ils sont largement apparentés, au point de vue antigénique, par des antigènes communs, propres à ce groupe.

Les conclusions concernant les communautés antigéniques entre *treponema calligyra*, *refringens*, *phagedenis* et *Reiter*, déduites des épuisements pratiqués, sont résumées dans le tableau N°VII.

TABLEAU N° II			Trep. Reiter US				Trep. phag. US				Trep. refrin. US				Trep. callig. US				Trep. minutum US				Tém. sérum
Trep. Reiter : 100fois la cult.	Immuns.	1/15	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	1	4	3	2	1	3	2	1	1	-
	anti tr.	1/45	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	1	-	4	2	1	-	3	1	-	-	-
	Reiter	1/135	±	1	2	2	1	2	2	3	2	1	±	-	2	1	-	-	2	-	-	-	-
Trep. phaged. 150fois la cult.	Id.	1/15	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	épuisé	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	par tr.	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
Trep. refring. 100fois la cult.	Immuns.	1/15	4	4	4	3	4	4	4	4	4	3	±	-	3	2	1	-	±	-	-	-	-
	anti tr.	1/45	2	3	2	1	3	4	4	4	4	3	±	-	3	1	1	-	±	-	-	-	-
	phaged.	1/135	-	-	-	-	1	2	3	3	4	2	-	-	2	±	-	-	±	-	-	-	-
Trep. callig. 100fois la cult.	Id.	1/15	-	-	-	-	4	4	4	4	4	1	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	immuns.	1/45	-	-	-	-	2	3	3	2	4	2	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	épuisé	1/135	-	-	-	-	-	-	+	1	2	±	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
Trep. minutum 150fois la cult.	Reiter																						
	Tém. antigènes		-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	1	±	-	-	±	-	-	-	-

TABLEAU N° III			Trep. Reiter US				Trep. phaged. US				Trep. refrin. US				Trep. callig. US				Trep. minutum US				Tém. sérum
Concentration anti-génique cf. tableau N° II	Immuns.	1/15	-	-	-	-	±	±	1	±	4	4	4	2	3	2	1	-	3	2	1	-	-
	anti tr.	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4	4	2	±	-	-	-	2	1	-	-	-
	refring.	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	1	1	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	Id. épui.	1/15	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4	2	1	±	-	-	-	1	±	-	-	-
	par tr.	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	2	1	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	callig.	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-
	Immuns.	1/15	2	3	3	2	3	4	3	2	4	4	4	1	4	3	2	-	3	3	1	-	-
	anti tr.	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4	3	±	4	4	3	-	3	2	1	-	-
	callig.	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	1	±	4	4	3	-	±	-	-	-	-
	Id. épui.	1/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	1	-	-	-	-	-	-
	par tr.	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	1	-	-	-	-	-	-
	refring.	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	Tém. antigènes		-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-

TABLEAU N° IV			Trep. Reiter US				Trep. phag. US				Trep. refrin. US				Trep. callig. US				Trep. minutum US				Tém. sérum
			1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	
Concen- tration anti- génique cf. tableau N° II	Immunsér.	1/15	4	4	4	4	4	4	4	3	4	4	3	2	4	3	2	1	4	3	1	-	-
	anti tr.	1/45	3	4	4	3	4	4	4	3	4	4	2	-	3	2	1	±	3	1	-	-	-
	Reiter	1/135	-	2	2	2	2	3	2	2	4	3	2	-	3	1	-	-	1	-	-	-	-
	Id.épuisé	1/15	4	4	4	3	4	4	4	3	4	3	±	-	3	-	-	-	1	-	-	-	-
	par tr.	1/45	3	4	3	2	4	4	4	3	4	3	±	-	3	-	-	-	1	-	-	-	-
	calligyra	1/135	-	1	2	±	2	3	3	2	3	2	±	-	2	-	-	-	±	-	-	-	-
	Id.épuisé	1/15	4	4	4	3	4	4	3	2	4	2	-	-	3	-	-	-	±	-	-	-	-
	par tr.	1/45	2	3	2	1	3	4	3	2	3	1	-	-	3	-	-	-	±	-	-	-	-
	refring.	1/135	-	-	±	-	±	2	2	1	1	-	-	-	3	-	-	-	±	-	-	-	-
Tém. antigènes			-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-

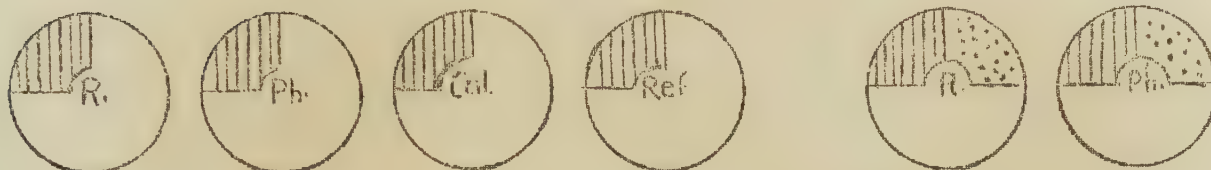
TABLEAU N° V			Trep. Reiter US				Trep. phag. US				Trep. refrin. US				Trep. callig. US				Trep. minutum US				Tém. sérum
			1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	
Concen- tration anti- génique cf. tableau N° II	Immunsér.	1/15	4	4	4	3	4	4	4	3	4	3	2	-	3	2	±	-	3	-	-	-	-
	anti tr.	1/45	2	3	3	2	4	4	4	3	4	3	2	-	3	±	-	-	±	-	-	-	-
	phaged.	1/135	-	-	±	-	3	4	4	3	4	3	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	Id.épuisé	1/15	4	4	4	2	4	4	4	3	4	3	±	-	3	-	-	-	1	-	-	-	-
	par tr.	1/45	2	2	2	1	4	4	4	3	4	3	±	-	3	-	-	-	±	-	-	-	-
	calligyra	1/135	-	-	-	-	2	2	4	3	4	3	1	-	3	-	-	-	±	-	-	-	-
	Id.épuisé	1/15	3	4	3	1	4	4	4	3	4	2	-	-	1	-	-	-	±	-	-	-	-
	par tr.	1/45	1	1	1	-	4	4	4	3	4	1	-	-	1	-	-	-	±	-	-	-	-
	refring.	1/135	-	-	-	-	-	3	4	3	3	1	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-
Tém. antigènes			-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-

Tableau N° VI			Trep. Reiter US				Trep. phag. US				Trep. refrin. US				Trep. callig. US				Trep. minutum US				Tém. sérum
			1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	1/15	1/45	1/135	1/405	
Concen- tration anti- génique cf. tableau N° II	Immunsér.	1/15	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	±	-	2	2	1	±	4	4	3	2	-
	anti tr.	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-	±	-	-	-	4	4	3	±	-
	Minutum	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	2	3	2	-	-
	Id.épuisé	1/15	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	3	4	3	1	-
	par tr.	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	3	4	2	±	-
	refring.	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	2	3	2	-	-
	Id.épuisé	1/15	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	4	4	3	1	-
	par tr.	1/45	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	4	4	3	1	-
	callig.	1/135	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	2	3	2	-	-
Tém. antigènes			-	-	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	±	-	-	-	-

TABLEAU N° VII

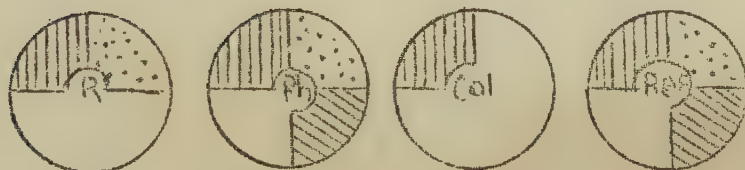
CONCLUSIONS TIREES DES RESULTATS DES EPUISEMENTS CROISES

(systèmes fixant le complément intervenant
entre treponema Reiter, phagedenis, calli-
gyra et refringens)



- 1 - Les AG communs entre tr. Reiter et tr. calligyra sont dans tr. phagedenis
- 2 - Les AG communs entre tr. phagedenis et tr. calligyra sont dans tr. Reiter
- 3 - Les AG communs entre tr. Reiter et tr. refringens sont dans tr. phagedenis
- 4 - Les AG communs entre tr. Reiter et tr. calligyra sont dans tr. refringens
- 5 - Les AG communs entre tr. phagedenis et tr. calligyra sont dans tr. refringens.

- 1 - Tr. Reiter et tr. refringens ont en commun des AG absents de tr. calligyra
- 2 - Tous les antigènes de tr. Reiter sont dans tr. phagedenis.



- 1 - Tr. phagedenis et tr. refringens ont en commun des AG absents de tr. Reiter
- 2 - Tr. phagedenis et tr. refringens ont en commun des AG absents de tr. calligyra
- 3 - Tr. phagedenis possède un AG absent de tr. Reiter
- 4 - Chacun de ces germes possède des AG propres.

3) ETUDE INDIVIDUELLE DES ESPECES, EN MILIEU GELIFIE,
A L'AIDE DU SERUM HOMOLOGUE DE CHAQUE GERML

On a vu, lors de l'exposé des techniques utilisées, les difficultés que l'on pouvait éprouver à la lecture d'images complexes où beaucoup de systèmes correspondent à des antigènes présents sous une forme polydispersée. Les structures antigéniques, telles que nous les décrivons, correspondent donc à un nombre minimum d'antigènes. On verra par exemple que l'étude comparative des espèces révèle un nombre de systèmes antigéniques plus élevé que ne le laisse soupçonner l'étude d'un germe par son sérum homologue.

a- Treponema Reiter

Dans les meilleurs cas, le couple ultrasonnat de treponema Reiter - immunsérum anti Reiter révèle 6 raies de précipitation (fig. 1) :



Fig. 1



Fig. 2

- a) une raie fine, nette, souvent bien marquée et toujours située à proximité de la source d'antigènes. Nous avons montré, dans un travail antérieur, qu'il s'agit de la raie due à l'antigène protéique de groupe
- b) une raie floue, peu marquée, peu large, qui paraît inconstamment : elle est souvent absorbée dans le dessin de la raie suivante
- c) une raie épaisse, très marquée, à bords flous, à peu près équidistante des sources d'antigènes et d'anticorps. Elle se déplace avec le temps en direction de la source d'antigènes qu'elle atteint et franchit tardivement. Elle recouvre et cache, dans son évolution, les raies précédentes

- d) immédiatement sous-jacente, une raie peu large, floue, tantôt bien visible, tantôt indiscernable, probablement masquée par la précédente
- e&f) à proximité de la source d'anticorps enfin, deux raies, toujours solidaires, parfois même n'en formant qu'une en regard de certaines préparations antigéniques ou de certains immunsérums. Elles se déplacent en direction de la source d'anticorps qu'elles chevauchent ou franchissent précocement. Elles se stabilisent au niveau de cette source ou dans la zone d'anticorps gélifié.

Le schéma, tel qu'il est décrit, est rarement complet dans les cuves. On a vu que certaines raies disparaissent dans le flou des raies voisines et que le dessin de certaines autres ne se dédouble qu'inconstamment. Dans la majorité des cas, le schéma est réduit à 4 raies : a, b, c+d, e+f (fig. 2).

b- Treponema phagedenis

Nous avons disposé d'un sérum anti phagedenis qui, peu précipitant en gel quand il était frais, n'a cessé de perdre ses qualités. Parallèlement à cette baisse du pouvoir précipitant, est apparue une instabilité du sérum qui, soit par la température à laquelle il est nécessairement porté lors du remplissage des cuves, soit par simple contact avec la gélose, donne, en cuve, des précipités non spécifiques, peu épais, irisant la lumière et rendant les lectures difficiles.

Dans les cuves les mieux lisibles, on trouve en partant de la source d'antigènes, 5 à 6 systèmes (fig. 3) :

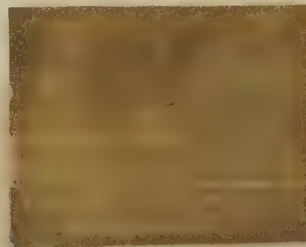


Fig. 3

- a) une raie fine et nette correspondant, nous le verrons plus loin, à l'antigène protéique de groupe
- b&c) 2 raies peu larges, floues, souvent confondues en une seule raie

d&e) une ou deux raies, selon les préparations, assez denses et assez fines

f) toute proche, enfin, de la source d'anticorps et diffusant parfois dans la zone d'immunsérum gélifié, une raie peu large, floue.

Ce schéma est assez peu stable d'une préparation antigénique à l'autre.

c- Treponema refringens

Dans les meilleures cuves, lorsque la dissociation des raies se fait de façon optimale, on distingue un maximum de 5 raies (fig. 4). Partant de la source d'antigènes, on observe :

- a) une raie dense, assez étroite et nette, située presque au contact de la source d'antigènes
- b) une raie fine, nette, mais si peu dense qu'elle est bien rarement visible et disparaît dans la masse de la raie précédente
- c) une raie épaisse, dense, à bords flous, souvent confondue avec la raie suivante
- d) une raie plus fine, de densité plus marquée, à bords également flous, plus proche de la source d'anticorps

Ces deux dernières raies se révèlent soit séparées, soit plus fréquemment fondues en une seule raie

- e) enfin, une raie très proche de la source d'anticorps, se déplaçant, au cours de son évolution, jusqu'à apparaître un peu au-delà de cette source, au sein de l'immunsérum gélifié. Elle est peu large, floue et sa faible densité fait qu'elle est souvent à la limite de visibilité.



Fig. 4

L'image fournie par *treponema refringens* opposé à l'immunsérum anti *treponema refringens* est assez constante d'une cuve à l'autre et d'une préparation antigénique à l'autre.

d- *Treponema calligyra*

Les images fournies par les préparations antigéniques de ce germe sont difficiles à interpréter. Nous avons dénombré, dans les meilleurs cas, 5 raies de précipitation qui sont, de la source d'antigènes à la source d'anticorps (fig. 5) :



Fig. 5

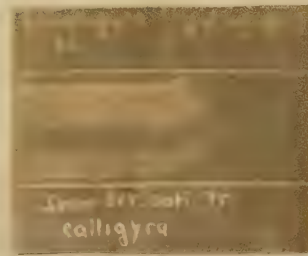


Fig. 6

- a) une raie fine, nette, toujours située à proximité de la source d'antigènes, souvent rendue peu visible par l'extension de la raie suivante
- b) une raie assez large, floue, peu marquée, passant parfois inaperçue, recouvrant, quand elle est suffisamment dense, la raie précédente sans la masquer
- c) une raie large et floue, mieux marquée que la précédente et située à peu près à égale distance des sources d'antigènes et d'anticorps
- d) une raie bien décelable car assez dense, peu large
- e) une dernière raie, proche de la source d'anticorps, souvent peu visible parce que confondue avec la raie précédente. Quand elle s'en détache, elle est cependant bien marquée.

Les images fournies par le système *treponema calligyra*-anti *treponema calligyra* sont le plus souvent incomplètes. Ce sont les raies b, c et d les plus constantes et l'image est réduite à 2 raies dont l'une représente b et c confondues (fig. 6).

e- Treponema minutum

La mauvaise pousse de ce germe dans nos milieux ne nous a permis d'obtenir ni des préparations antigéniques, ni des sérums de qualité. L'interprétation des images de précipitation en gel n'en a pas été facilitée.

Treponema minutum, opposé à son sérum homologue (fig. 7), paraît cependant révéler 4 à 6 systèmes qui sont, en partant de la source d'antigènes :

- a) une raie fine et nette, pratiquement jamais visible dans les conditions normales et que l'on ne peut mettre en évidence qu'en opposant l'antigène *minutum* simultanément à l'immunsérum anti *minutum* et au sérum syphilitique. C'est, on le verra plus loin, la raie dite protéique
- b) une raie assez fine et dense, à bords flous, très proche de la source d'antigènes
- c) une raie moins marquée, à bords flous, immédiatement inférieure à la précédente
- d) une raie à bords flous mais peu large, de densité variant selon les cuves, le plus souvent assez marquée, équidistante des sources d'antigènes et d'anticorps
- e&f) 2 raies enfin, souvent confondues en une seule raie, assez large et à bords flous.

Ce schéma idéal est rarement complet mais la raie d) est très constante, souvent accompagnée de e) et f) confondues et, plus rarement, de a) (fig. 8).

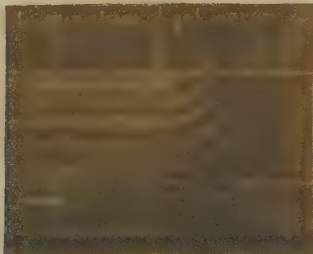


Fig. 7

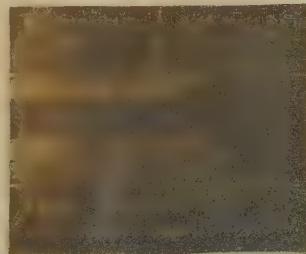


Fig. 8



4) ETUDE COMPARATIVE DES ESPECES EN MILIEU GELIFIE

Nous avons comparé ces espèces en les opposant deux à deux, de manière à ce que chacun des immunsérums et chacun des extraits antigéniques ait été en définitive opposé et comparé à tous les autres immunsérums et tous les autres extraits.

Imaginons le cas de deux extraits antigéniques A et B et de leurs anti-sérums respectifs anti A et anti B. Nous avons réalisé 4 cuves :

- dans la première, A et B sont opposés à anti A
- dans la seconde, A et B sont opposés à anti B
- dans la troisième, A est opposé à anti A et anti B
- dans la dernière, B est opposé à anti A et anti B.

Cela représente, pour les 5 espèces, un total de 20 cuves. Nous avons répété chaque cuve plusieurs fois : avec les mêmes préparations et avec des préparations différentes. Nous avons fait, chaque fois que cela était possible et souhaitable, des témoins.

Nous avons relevé les images données par les raies apparues dans ces cuves : chaque jour en début d'évolution, tous les deux jours au bout d'une semaine, puis rapidement chaque semaine jusqu'à ce que la cuve devienne illisible pour une raison ou une autre (dessiccation, altération de la transparence du gel, etc...).

Nous reproduisons ici les schémas que nous avons obtenus dans le plus grand nombre de cas. Ce sont eux que nous considérons comme l'image type.

Si deux images légèrement différentes se présentent avec une égale fréquence, nous les reproduisons toutes deux. On trouvera fréquemment, pour une solution antigénique opposée à son propre anti sérum, un nombre de raies supérieur à celui qui a été décrit lors de l'étude individuelle des espèces. Cela est dû au fait que les raies superposées, donc indissociables dans une réaction homologue, se dissocient et s'individualisent parfois dans la réaction hétérologue par le seul jeu des nouvelles concentrations en antigènes et en anticorps offertes par les réactifs hétérologues.

Nous avons omis de représenter ici des cuves pourtant réalisées mais qui ne nous ont pas donné des images satisfaisantes.

a- Communautés antigéniques entre
treponema Reiter et treponema phagedenis



Fig. 9



Fig. 10

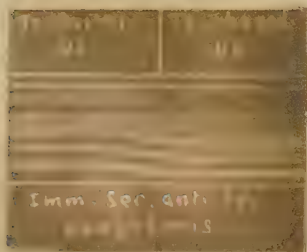


Fig. 11



Fig. 12

Il existe, entre *treponema Reiter* et *treponema phagedenis*, une très large communauté antigénique portant sur 5 systèmes antigéniques au moins, 6 au plus. En effet l'une des raies obtenues, quand l'immunsérum anti Reiter est opposé à l'ultrasonnat de ce germe, se dédouble fréquemment quand le même immunsérum est opposé à l'ultrasonnat de *treponema phagedenis* (fig. 10).

Treponema Reiter et *treponema phagedenis* ne sont cependant pas identiques; *treponema Reiter* présente 2 systèmes propres (fig. 10 et 12). Quant à *treponema phagedenis*, il semble posséder un système propre, quoique l'image obtenue n'exclue pas la possibilité d'une concentration plus forte ou de diffusibilité plus grande de l'un des antigènes (fig. 11) dans l'extrait antigénique de *treponema phagedenis*.

Si on fait le compte des antigènes que *treponema Reiter* possède en propre et ceux qu'il possède en commun avec *treponema phagedenis*, on arrive au total de 8, ce qui excède notablement le nombre de raies révélées par l'étude individuelle du système Reiter - anti Reiter. On a vu plus haut la raison de cette apparente contradiction.

b- Communautés antigéniques entre
treponema calligya et treponema refringens

Ces communautés sont révélées par l'immunsérum anti calligya.



Fig. 13

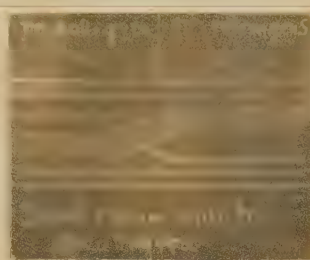


Fig. 14



Fig. 15

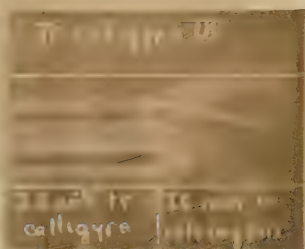


Fig. 16

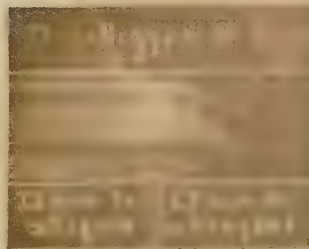


Fig. 17

Treponema refringens et treponema calligya ont au moins 4 à 5 systèmes communs : la plus grande part de ces communautés est révélée par le sérum anti treponema calligya. Trois raies communes sont visibles dans les cuves 14 et 15. Il semble enfin que la raie la plus proche de la source d'anticorps puisse parfois se dédoubler (fig.15).

Les seules différences apparentes révélées entre les deux germes par le sérum anti calligya sont des différences de concentration d'antigènes (fig. 14).

Un fait notable est l'incapacité de notre sérum anti treponema refringens à révéler la totalité des communautés existant entre les deux germes. Une seule raie, fine et proche de la source d'antigènes, apparaît dans les cuves où nous l'avons utilisé (fig. 16 et 17).

c- Communautés antigéniques entre
treponema Reiter et treponema refringens



Fig. 18

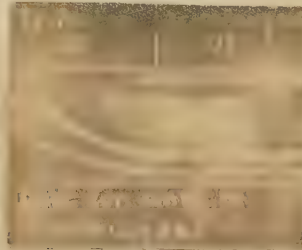


Fig. 19

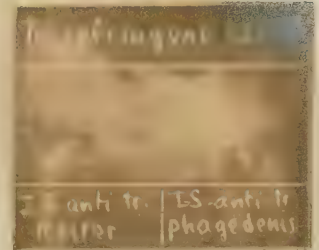


Fig. 20

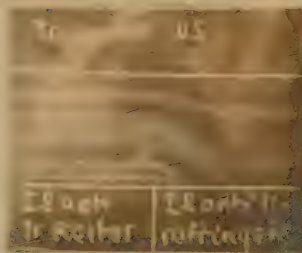


Fig. 21

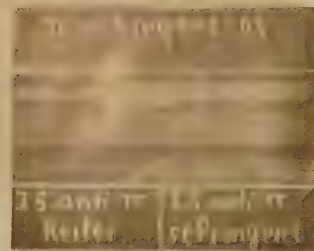


Fig. 22

Treponema refringens et treponema Reiter ont en commun au moins 3 systèmes. Deux d'entre eux donnent des raies floues, larges, à la limite de visibilité et par conséquent absentes dans certaines cuves (fig. 18, 19). L'image ainsi révélée est indépendante de celui des deux germes qui a servi à préparer la suspension antigénique ou l'immunsérum (fig. 20, 21, 22).

L'immunsérum anti treponema refringens, opposé à l'ultrasonnat de treponema Reiter, révèle en outre une raie fine et nette proche de la source d'antigènes (fig. 19).

d- Communautés antigéniques entre
treponema Reiter et treponema calligyra



Fig. 23



Fig. 24



Fig. 25



Fig. 26



Fig. 27

Il existe, entre *treponema calligyra* et *treponema Reiter*, au moins 4 systèmes communs. Deux raies proches de la source d'anticorps se révèlent constamment (fig. 23, 24, 25, 26, 27). Deux autres sont inconstamment révélées : l'une fine, nette, proche de la source d'antigènes, est visible dans les cuves N° 24, 25, 26. La dernière enfin est immédiatement sous-jacente à celle-ci. Elle est peu visible (fig. 23, 25, 26) ou absente (fig. 24).

c- Communautés antigéniques entre
treponema phagedenis et treponema refringens



Fig. 28



Fig. 29



Fig. 30

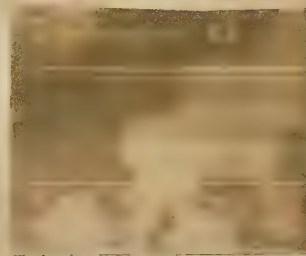


Fig. 31

Il existe, entre *treponema refringens* et *treponema phagedenis*, au moins 2 systèmes communs : l'un d'entre eux est matérialisé par la présence d'une raie fine, nette, située à proximité de la source d'antigènes, inconstamment révélée mais visible dans les figures N° 29 et 31. Une autre raie est floue, peu marquée, assez large, à peine visible dans les cuves opposant l'extrait antigénique de *treponema refringens* à l'immunsérum anti *treponema phagedenis* (fig. 28 et 31).

Il est intéressant de noter les ressemblances qui existent entre les cuves opposant les 2 espèces *phagedenis* et *refringens* et celles opposant les 2 espèces *Reiter* et *refringens* (fig. 18 et 28, 19 et 29, notamment).

f- Communautés antigéniques entre
treponema phagedenis et treponema calligya



Fig. 32

La seule cuve de cette série clairement interprétable montre l'existence d'au moins 4 systèmes communs entre les deux germes (fig. 32). L'un de ces systèmes, dont on discutera la signification plus loin, donne une raie fine, nette, située à proximité de la source d'antigènes.

Ici encore, il est intéressant de noter la similitude existant entre la cuve opposant les deux espèces phagedenis et calligya et la cuve similaire opposant les deux espèces Reiter et calligya (fig. 24 et 32).

g- Communautés antigéniques entre
treponema minutum d'une part,
treponema Reiter et treponema phagedenis,
d'autre part



Fig. 33



Fig. 34



Fig. 35



Fig. 36

L'immunsérum anti *treponema minutum*, opposé à une préparation antigénique de *treponema Reiter*, a révélé (inconstamment d'ailleurs) un seul système commun, donnant une raie fine, nette, située à proximité de la source d'antigènes (fig. 36).

Opposé aux extraits antigéniques de *treponema phagedenis*, l'immunsérum anti *treponema minutum* révèle ce même système (fig. 34 et 36).

h- Communautés antigéniques entre
treponema minutum et les germes treponema
refringens et treponema calligyra

Dans la majorité des cas, nous n'avons pu mettre en évidence aucune communauté antigénique certaine entre ces germes par la méthode de précipitation en gel avec les réactifs dont nous disposions. (voir figures ci-dessous).





5) COMMUNAUTÉS ANTIGÉNIQUES ENTRE LE TREPONÈME PÂLE PATHOGENE ET LES TREPONEMES DE CULTURE ETUDIÉS ICI

Les communautés existant entre le tréponème de Reiter et le tréponème pâle pathogène sont connues de longue date. D'Alessandro et ses collaborateurs ont obtenu, à partir de ce germe, une préparation antigénique fixant le complément avec le sérum syphilitique (ATPS) (5).

Les caractères physico-chimiques de l'antigène responsable de cette communauté, sa thermolabilité, son comportement en milieu salin, en milieu acide, sa sensibilité à certains enzymes (pepsine, papaïne) ont permis de lui attribuer une nature protéique.

Dans une publication antérieure, Mademoiselle Faure, J. Pillot et nous-même avons étudié cet antigène protéique commun entre treponema Reiter et treponema pallidum. Nous avons montré qu'il s'individualise, en gel, sous l'aspect d'une raie fine, nette, bien tracée, toujours située, dans les conditions expérimentales définies, à proximité de la source d'antigènes. Tout traitement approprié des préparations antigéniques, qui fait disparaître la fixation du complément entre les extraits de treponema Reiter et les sérums syphilitiques, fait également disparaître cette raie de précipitation (fig. 50, 51).

Nous avons, par la fixation du complément et la précipitation en gel, opposé les ultrasonnats de divers germes étudiés ici (treponema Reiter, phagedenis, refringens, calligyra, minutum) à des sérums de lapin hyper-immunisés par le tréponème pâle pathogène, souche Nichols et à des sérums humains de malades atteints de syphilis, Pian, Pinta.

La fixation du complément (tableau N° VIII) montre que ces 5 germes ont, avec le tréponème pâle pathogène, au moins un antigène commun fixant le complément avec les sérums syphilitiques. Le même tableau montre que l'épuisement des sérums syphilitiques par treponema Reiter fait disparaître totalement cette réaction de fixation du complément. De même, le tableau N° IX montre que l'épuisement d'un sérum de pianique par treponema Reiter fait disparaître toute fixation du complément dans la réaction opposant le sérum épuisé et treponema phagedenis.

TABLEAU N° VIII		Trep. Reiter ult.s.			Trep. phaged. ult.s.			Trep. refrin. ult.s.			Trep. callig. ult.s.			Trep. minutum ult.s.			Tém. sérum
		1/40	1/120	1/360	1/40	1/120	1/360	1/40	1/120	1/360	1/40	1/120	1/360	1/40	1/120	1/360	
Sérum	1/4	4	4	4	4	4	2	4	4	1	3	1	±	4	2	-	-
syphi-	1/8	3	3	2	4	3	1	4	3	1	2	1	±	3	1	-	-
litique	1/16	2	2	1	2	2	1	2	2	±	+	+	-	2	+	-	-
Id.	1/4	±	±	-	1	±	-	1	±	-	±	±	-	±	±	-	±
épuisé	1/8	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	-
par tr.	1/16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reiter																	
Tém. antig.		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TABLEAU N° IX		Trép. phagedenis ultrasonné au 1/200		Tém. sérum
Sérum de Pian	1/4 1/8 1/16	4 4 3		- - -
Id. épuisé par tr. Reiter	1/4 1/8 1/16	± ± ±		± - -
Tém. antig.		±		

Les titres antigéniques sont plus élevés avec les préparations antigéniques de *treponema Reiter* et *phagedenis* qu'avec les préparations de *treponema refringens*, *calligyra* et *minutum*. La précipitation en gel, moins sensible que la fixation du complément, ne révèle nettement de communauté antigénique qu'entre 4 des germes étudiés ici et le *tréponème* pâle pathogène.

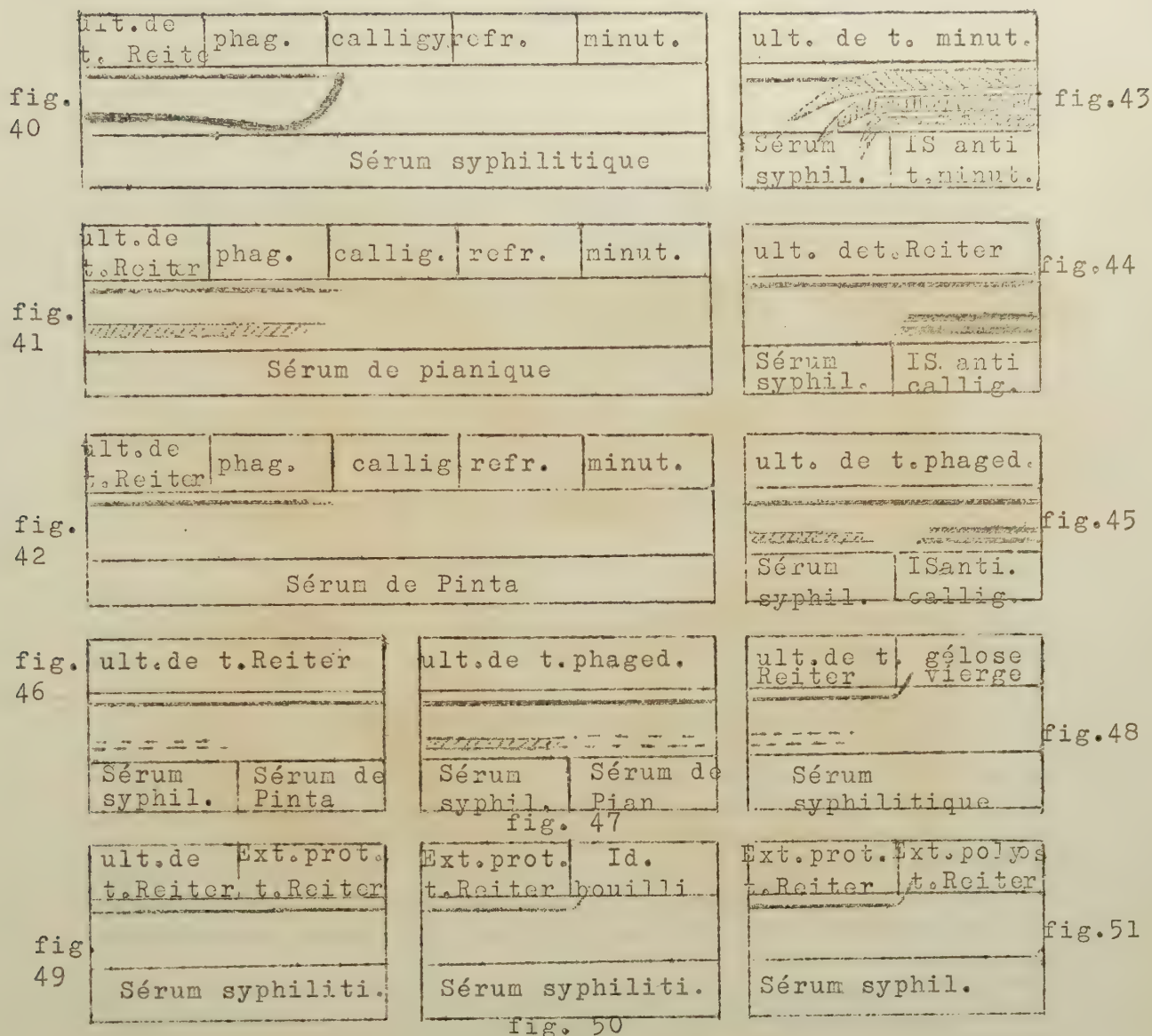
Les figures 40, 41, 42 montrent la raie fine, déjà décrite, proche de la source d'antigènes, obtenue avec les ultrasonnats de *treponema Reiter* et *phagedenis*, directement opposés aux sérums syphilitiques ainsi qu'à des sérums de Pian et Pinta. Les figures 46 et 47 montrent que le système antigénique révélé est le même avec les 3 sérums qu'avec les deux antigènes, la raie de précipitation se poursuivant sans discontinuité de part et d'autre de la cuve. Dans aucune des cuves N° 40, 41 ou 42 n'apparaît de précipitation en regard des extraits antigéniques de *treponema calligyra*, *refringens* et *minutum*.

C'est indirectement et dans 2 cuves seulement que nous avons pu mettre en évidence, en gel, la présence, dans *treponema calligyra*, de l'antigène protéique de groupe (fig. 44 et 45). On voit qu'il s'agit là encore du même système.

Les extraits antigéniques de *treponema minutum* ont donné, dans de rares cas, une raie de précipitation d'allure protéique avec les sérums syphilitiques (fig. 43). Il s'agit là très vraisemblablement du même système bien que nous n'ayons jamais obtenu de précipitation en regard des extraits antigéniques de *treponema minutum* dans des cuves qui opposaient concurremment les extraits de ce germe et de *treponema Reiter* et *phagedenis* au sérum syphilitique.

Nous n'avons jamais pu obtenir, en gel, la preuve de la présence d'antigène protéique de groupe dans les extraits antigéniques de *treponema refringens*. Toutefois des expériences étrangères à ce travail, conduites par J. Pillot (résultats non publiés) et faisant intervenir l'immuno-fluorescence avec des sérums syphilitiques ont confirmé la présence d'antigène protéique de groupe dans *treponema refringens* (et dans *treponema phagedenis*).

On voit donc que les 5 germes saprophytes étudiés ici ont en commun, avec le *tréponème* pathogène, un antigène de nature protéique. Plusieurs cuves, et notamment la cuve N°40, pourraient laisser croire à une communauté portant sur plusieurs systèmes. Nous verrons plus loin ce qu'il faut en penser.



NB- La figure 51 est extraite d'une publication antérieure faite par J. Pillot, Mademoiselle Faure et nous-même (26). L'extrait polysidique de treponema Reiter utilisé dans cette cuve est constitué par une solution mère de précipitation pH 3,5 des protéines. La solution "extrait protéique" utilisée dans les cuves 49, 50, 51 est préparée par précipitation à pH 3,5 d'un ultrasonnat de tréponèmes délipidés et reprise du culot dans un petit volume d'eau à pH 8.

III - LES SERUMS NORMAUX SPONTANEMENT PRECIPITANTS AVEC LES ULTRASONNATS DE CERTAINS DES GERMS ETUDIES ICI

Les cuves opposant les ultrasonnats de treponema Reiter et de treponema phagedenis à divers sérums syphilitiques, ont révélé la présence de 2 systèmes précipitants, l'un étudié plus haut correspondant à l'antigène protéique de groupe, l'autre fournissant une raie à bords flous, peu épaisse, toujours située, dans le cadre de nos conditions expérimentales, à proximité de la source d'anticorps (fig.40). C'est ce dernier système que nous étudions ici.

La cuve témoin (N° 53) montre qu'il s'agit bien d'un système antigénique et non d'une précipitation non spécifique, comme certains sérums syphilitiques nous en donnent, en cuve, avec les géloses même purifiées (fig.N°52).

La multiplication des cuves témoins faites avec des ultrasonnats de treponema phagedenis opposé à des sérums réputés normaux, humains et animaux (lapin, cheval, poulain, porc), a montré que ce système précipitant est contenu dans un nombre appréciable de sérums de sujets non suspects de syphilis (fig. 54) et n'implique pas nécessairement une communauté entre le tréponème pâle et les tréponèmes de Reiter et phagedenis. Nous discuterons plus loin ces résultats.

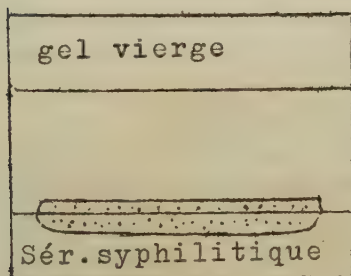


Fig. 52

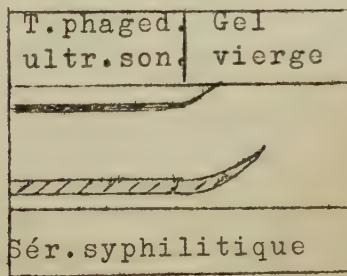


Fig. 53

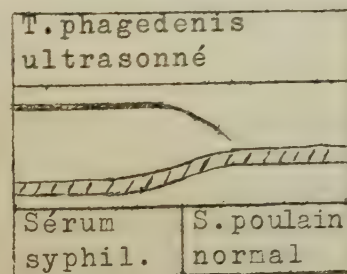


Fig. 54

Dans tous les cas, l'antigène correspondant s'est révélé moins concentré dans les extraits antigéniques de treponema Reiter que dans ceux de treponema phagedenis : la raie obtenue est plus dense et plus éloignée de la source d'antigènes en regard des ultrasonnats de ce dernier germe. Aucun sérum, normal ou syphilitique, n'a mis ce système en évidence en regard des ultrasonnats de treponema refringens, calligyra ou minutum (fig. 40).

F - DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Nous avons entrepris cette étude avec l'idée entre autres de pouvoir vérifier le bien-fondé de certaines assimilations rencontrées dans la littérature (assimilation de *treponema Reiter* soit à *treponema refringens* (29, 14), soit à *treponema pallidum*, devenu provisoirement ou définitivement apathogène) et de pouvoir apporter de nouvelles bases à la classification des tréponèmes.

I - LES TECHNIQUES

Parmi les techniques possibles, nous avons essentiellement utilisé la fixation du complément et les réactions de précipitation en gel. Ces dernières, surtout, nous ont paru particulièrement appropriées à une étude qualitative des communautés antigéniques. Nous avons choisi, après quelques tâtonnements, la précipitation en gel dans des cuves, en diffusion double, telle qu'elle est décrite dans les techniques expérimentales.

Nous avons essayé, parallèlement à la technique en cuves type Oudin, une technique en plaques type Ouchterlony et une technique voisine, plus sensible.

Les méthodes en plaques type Ouchterlony sont de mise en oeuvre plus simple et plus rapide et permettent de travailler avec les réactifs plus concentrés.

Elles présentent cependant plusieurs inconvénients qui nous les ont fait écarter : leur sensibilité est moindre que celle des méthodes en cuves, en raison de la plus forte concentration en gélose et de la masse de gel dans laquelle les réactifs diffusent et se perdent sans former de précipité. De plus, le fond irrégulier des boîtes de Pétri ne facilite pas les lectures. Nous avons vérifié, avec nos préparations antigéniques, une simplification des images fournies par les techniques en cuves. Si les systèmes non révélés par la technique la moins sensible sont discriminants entre les espèces, on peut ainsi ignorer des différences antigéniques réelles.

Nous avons essayé d'augmenter la sensibilité des techniques en plaques type Ouchterlony en leur apportant quelques-uns des artifices qui font la supériorité des techniques en cuves : support de verre très plan, faible concentration de gel et diminution des masses de gel inutiles pour la diffusion et la précipitation. Il suffit d'utiliser pour cela la technique qui sert à la préparation des plaques de gel destinées à l'immuno-électrophorèse. Une gélose est coulée sur une plus ou moins faible hauteur à une concentration égale, ou inférieure, à 1%, sur des plaques de verre à doubler photographiques. On obtient alors d'excellents résultats.

Malheureusement ce type de plaques nécessite un contrôle plus rigoureux des degrés thermiques et hygrométriques de l'ambiance pendant toute la durée de la précipitation, sinon l'évolution des raies peut être suivie moins longuement et moins aisément que dans les cuves où le gel est relativement protégé de la dessiccation.

Pour toutes ces raisons, nous avons adopté les techniques en cuves type Oudin, contrairement à la plupart des auteurs qui semblent préférer les techniques en plaques type Ouchterlony pour ce genre de travail.

II - LES COMMUNAUTÉS ANTIGENIQUES

Comme nous l'avons déjà constaté, la fixation du complément et la précipitation en gel permettent un groupement des 5 espèces étudiées ici :

- Groupe n° 1 : treponema Reiter-treponema phagedenis
- Groupe n° 2 : treponema calligyra-treponema refringens
- Groupe n° 3 : treponema minutum

Au sein du premier groupe (treponema Reiter-treponema phagedenis), nous avons noté la plus grande sensibilité de la réaction de fixation du complément opposant l'immunsérum anti-treponema phagedenis à l'ultrasonnat homologue, par rapport à la réaction opposant le même immunsérum à l'ultrasonnat detreponema Reiter. Ceci plaide en faveur d'une plus grande complexité antigénique. La réaction de fixation du complément est plus sensible lorsque plusieurs systèmes sont en jeu que lorsqu'un seul système est en jeu. Ceci a été particulièrement mis en évidence dans une publication antérieure (26).



Ces résultats sont corroborés par l'épuisement croisé d'un sérum entre les deux espèces. On constate que *treponema* Reiter est incapable d'épuiser complètement un sérum anti *treponema phagedenis*. On note une simple baisse de la sensibilité de la réaction homologue après épuisement. *Treponema phagedenis* fait au contraire disparaître, d'un immunosérum anti *treponema* Reiter, tous les anticorps contre ce dernier germe intervenant dans la fixation du complément.

Cette technique met donc en évidence une plus grande richesse antigénique de *treponema phagedenis*. En gel, *treponema phagedenis* semble posséder effectivement un antigène propre, absent de *treponema* Reiter. Mais, par cette technique, *treponema* Reiter, de son côté, révèle au moins 2 antigènes propres, absents de *treponema phagedenis*. Il y a là une différence dans la structure antigénique que la fixation du complément n'a pu mettre en évidence.

La confrontation des deux espèces, en cuve et par la fixation du complément, permet donc de dire que *treponema* Reiter possède au moins 8 antigènes dont 6 au moins sont communs avec *treponema phagedenis*. De son côté, *treponema phagedenis* possède 5 à 6 systèmes antigéniques dont un seulement lui est propre. Tous les autres sont communs avec *treponema* Reiter. Aux 2 antigènes propres à *treponema* Reiter, correspondraient des anticorps précipitants, ne fixant pas le complément. A l'antigène propre à *treponema phagedenis*, correspondrait un anticorps précipitant et fixant le complément.

Au sein du second groupe (*treponema calligyra-treponema refringens*), nous avons noté la faiblesse de la fixation du complément par un sérum anti *treponema refringens* en présence d'un ultrasonnat de *treponema calligyra*. Il s'agit probablement, comme dans le groupe précédent, d'une moins grande sensibilité des réactions hétérologues en raison du plus petit nombre de systèmes en jeu. Cette hypothèse est corroborée par les conclusions que l'on a tirées des épuisements croisés en gel. Parallèlement, le même sérum est, en gel, peu précipitant, incapable de révéler des communautés pourtant réelles entre *treponema refringens* et *treponema calligyra* et réagit mal, même avec le germe homologue. Le sérum anti *treponema refringens* est donc en outre peu riche en anticorps.



Les techniques d'épuisements croisés d'immunsérum appliquées à ces germes révèlent l'existence d'antigènes propres à chacun d'eux. L'étude des réactions croisées en gel, si elle montre l'importance des communautés (4 à 5 systèmes au moins), n'a pu mettre en évidence ces antigènes propres, responsables de la fixation du complément. Ceux-ci ne peuvent être nombreux si l'on considère que le nombre de systèmes communs est sensiblement égal au nombre minimum d'antigènes propres révélés dans les réactions de ces germes avec leur seul anti sérum homologue (5 systèmes au moins). On peut admettre que les antigènes propres à chaque germe ont une concentration telle que leur mise en évidence n'est pas compatible avec la sensibilité des techniques de précipitation en gel.

Une communauté antigénique faible est révélée par fixation du complément entre les 2 groupes treponema Reiter et treponema phagedenis d'une part, treponema refringens et treponema calligyra d'autre part. Si l'on en juge d'après les résultats des épuisements croisés, il semble que treponema refringens ait, avec treponema phagedenis, des communautés antigéniques qu'il ne possède pas avec treponema Reiter (Tableau N° II).

La précipitation en gel n'a pu mettre cela en évidence. Il est au contraire nécessaire de souligner la similitude qui existe entre les cuves opposant treponema Reiter à treponema refringens (extraits et immunsérums) et les cuves opposant treponema phagedenis et treponema refringens (extraits et immunsérums). Ces similitudes montrent que ce sont les mêmes antigènes de treponema Reiter et de treponema phagedenis qui sont communs entre ces germes et treponema refringens. Il y a donc là une discordance entre la précipitation en gel et la fixation du complément.

Nous avons vu plus haut que certains antigènes de treponema refringens fixent le complément mais ne se révèlent pas en cuve. Certains d'entre eux peuvent être responsables de ces communautés entre treponema refringens et treponema phagedenis uniquement et être à l'origine des divergences constatées.

Treponema calligyra paraît posséder en commun, avec treponema Reiter d'une part et treponema phagedenis d'autre part, les mêmes antigènes. La fixation du complément, après épuisement croisé des immunsérums, corrobore ici les similitudes observées entre les cuves opposant treponema calligyra (antigène et immunsérum) soit à treponema Reiter, soit à treponema phagedenis (antigène et immunsérum).

Si l'on en croit la fixation du complément, il existe, entre *treponema minutum* et le groupe n° 1 (*treponema phagedenis-treponema Reiter*), une très faible communauté antigénique que seuls les sérums anti *treponema Reiter* et anti *treponema phagedenis* sont capables de révéler. La même remarque est valable en ce qui concerne le groupe *treponema refringens-treponema calligyra*. L'épuisement du sérum anti *treponema minutum* par ces deux derniers germes ne modifie en rien la fixation du complément en présence de l'ultrasonnat de *treponema minutum*.

Par contre, les autres épuisements réalisés (celui du sérum anti *treponema Reiter* par *treponema phagedenis*, du sérum anti *treponema refringens* par *treponema calligyra*, du sérum anti *treponema calligyra* par *treponema refringens*) font disparaître toute fixation entre les sérums épuisés et l'ultrasonnat de *treponema minutum*. Il est donc probable que le même antigène est commun entre *treponema phagedenis*, *treponema Reiter* et *treponema minutum* d'une part, entre *treponema refringens*, *treponema calligyra* et *treponema minutum* d'autre part.

Seul, le sérum anti *treponema minutum*, opposé à des extraits antigéniques de *treponema Reiter* et *phagedenis*, a révélé en gel ces communautés. Or il nous a fourni, dans ces conditions, une raie assez fine, proche de la source d'antigènes, que nous aurions attribuée à l'antigène protéique de groupe si l'absence de fixation du complément de ce sérum avec ces extraits ne venait infirmer cette hypothèse. Il faudrait donc admettre, entre *treponema Reiter*, *treponema phagedenis* et *treponema minutum*, deux systèmes communs, l'un précipitant et non fixant, l'autre fixant le complément, non révélé en gel par manque de sensibilité des techniques utilisées. Ceci nous paraît peu probable.

L'absence de fixation du complément d'un sérum anti *treponema minutum* en présence des extraits de *treponema Reiter* et *treponema phagedenis* reste inexpliquée.

Nous avons résumé dans les tableaux ci-dessous les résultats fournis par la précipitation en gel et la fixation du complément.

Nous avons comparé les résultats fournis par l'une et l'autre méthode en cherchant à mettre en évidence les coïncidences et les divergences dont nous avons discuté la signification possible.

TABEAU N° X

TABEAU N° XI

	Tr. reiter	Tr. phagoc.	Tr. refring.	Tr. colligya	Tr. minutum	Tr. reiter	Tr. phagoc.	Tr. refring.	Tr. colligya	Tr. minutum
IS. anti tr. Reiter	forte		faible			5 à 8		1 à 3		
IS. anti tr. phagoc.										
IS. anti tr. refring.	absente					1 à 3				0
IS. anti tr. colligya	faible		forte			4		4 à 5		
IS. anti tr. minutum	absente				forte	1				4 à 6

Importance de la fixation du complément.

Nombre de raies révélées en gel.

III - COMMUNAUTES ANTIGENIQUES ENTRE LE TREPONEME PALE ET LES ESPECES SAPROPHYTES ETUDIEES ICI

En raison de l'impossibilité actuelle de cultiver le tréponème pâle, la structure antigénique de celui-ci est mal connue. Il renferme des antigènes de nature lipidique (antigène lipidique de Wasserman), protéique (antigène protéique de groupe) et probablement polysidique.

J. Pillot, Mademoiselle Faure et nous-même avons montré, dans une publication antérieure, que les réactions de fixation du complément ou de précipitation en gel des sérums syphilitiques avec treponema Reiter ne font intervenir, pratiquement, que le seul système protéine-anti protéine de groupe. Il en est certainement de même avec nos autres espèces. La fixation du complément se manifeste, à des degrés divers, entre le sérum syphilitique et les ultrasonnats de treponema Reiter, phagedenis, minutum, refringens et calligyra. L'épuisement d'un sérum syphilitique par treponema Reiter fait disparaître toute fixation, avec toutes nos espèces. La même communauté antigénique existe donc entre treponema pallidum et treponema Reiter d'une part, treponema pallidum et les autres espèces saprophytes étudiées d'autre part.

En gel, le sérum syphilitique révèle, dans tous les cas, avec les ultrasonnats de treponema Reiter et phagedenis, la raie unique, fine, nette, caractéristique de ce système. La mise en évidence de cette raie de précipitation est difficile lorsqu'on emploie des préparations antigéniques de treponema calligyra et minutum, impossible lorsqu'on emploie des préparations antigéniques de treponema refringens. Il y a là un défaut de sensibilité des techniques de précipitation en gel par rapport à la fixation du complément ou, on l'a vu, par rapport à l'immuno-fluorescence.

Les sérums de malades atteints de Pian ou de Pinta se comportent, en gel, comme les sérums syphilitiques. Ils fixent également le complément avec tous nos extraits antigéniques; malheureusement le fort pouvoir anticomplémentaire des sérums dont nous disposons ne nous a pas apporté des résultats que nous puissions considérer comme définitifs. La précipitation en gel, quelques épuisements croisés nous ont cependant montré qu'ici encore c'est le même système protéine-anti protéine de groupe qui intervient.

Toutes nos espèces n'ont pas la même richesse en cet antigène. Seule la pauvreté de *treponema refringens*, *treponema calligyra* et *treponema minutum* en antigène protéique de groupe peut expliquer à la fois :

- l'incapacité des immunsérums obtenus avec ces germes à fixer le complément de façon significative avec les extraits de *treponema* Reiter et *phagedenis* pourtant riches en antigène protéique
- la rareté avec laquelle les sérums syphilitiques, les sérums anti Reiter et anti *phagedenis* opposés, en gel, aux ultrasonnats de *treponema calligyra*, *minutum* et *refringens* révèlent la raie du système protéine-anti protéine de groupe
- le titre antigénique bas révélé par le sérum syphilitique dans les préparations antigéniques de ces trois germes.

IV - DISCUSSION DE LA CLASSIFICATION DE CES ESPECES EN FONCTION DE NOS RESULTATS

La classification des spirochètes repose essentiellement, on l'a vu, sur des critères morphologiques, des affinités tinctoriales, des caractères physiologiques. Un effort original a été fait par Babudieri qui fait appel aux données récentes de la microscopie électronique. Nous avons vu que l'un des auteurs cités, Bergey (4), place *treponema refringens* parmi les *Borellia*, *treponema calligyra*, *treponema minutum* et *treponema pallidum* d'autre part parmi les *treponema*. Prévot place tous les germes étudiés ici parmi les *treponema*.

Si l'on se réfère à l'étude de ces germes faite par Moureau et Quintini (16) en microscopie électronique et si l'on compare les résultats qu'ils ont obtenus avec la classification proposée par Babudieri (1), on constate que ces espèces appartiennent toutes à la famille des *spirochaetaceae* et à la catégorie dépourvue d'axostyle et pourvue d'une membrane plus ou moins évidente. Mais *treponema refringens* et *treponema minutum*, munis de flagelles, devraient s'inscrire dans les *treponema*, alors que *treponema phagedenis* et *treponema calligyra*, apparemment dépourvus de flagelles, devraient s'inscrire dans les *critispiraella*.

Toutes nos espèces n'appartiendraient donc pas au même genre mais la répartition dans les différents genres n'est pas la même selon le mode de classification envisagée. Il est évident que les divers classificateurs, ne choisissant pas les mêmes éléments discriminatoires, ne peuvent aboutir aux mêmes résultats. Il est non moins évident qu'une classification conséquente des germes devrait voir converger, sur chaque espèce déterminée, le maximum de critères discriminants, sinon il faut penser que certains d'entre eux sont mal choisis.

De nombreuses espèces, au sein de groupes très divers, sont aujourd'hui étudiées et comparées par des méthodes analogues à celles utilisées ici (fixation du complément, précipitation en gel, agglutination).

A la base de ces travaux, est l'idée que tout germe possède une structure antigénique complexe. Certains éléments de cette structure sont propres au clone, propres à la souche, propres à l'espèce, etc... auxquels le germe appartient. Certains autres sont communs entre plusieurs clones, plusieurs souches, plusieurs espèces, etc... Dès qu'intervient une communauté antigénique entre deux espèces, l'analyse immuno-chimique fournit un excellent critère de classification. Elle n'échappe cependant pas à trois défauts :

- la variabilité des structures antigéniques et des réponses à l'immunisation selon les conditions expérimentales
- la plus ou moins grande sensibilité de la méthode utilisée faisant intervenir ou révélant un plus ou moins grand nombre de systèmes antigéniques
- la création exagérée de cadres de plus en plus restreints par la recherche de communautés, toujours plus étroites, au sein même de l'espèce ou de la souche.

Ceci pourrait avoir un intérêt épidémiologique mais ne peut qu'alourdir les classifications.

Nous avons nous-même constaté, et nous l'avons noté plus haut, combien il est difficile, malgré la standardisation des procédés d'obtention des souches et de préparation des antigènes, d'assurer une reproductibilité parfaite des résultats, notamment en gel.

L'obtention d'immunsérums identiques chez des individus différents est impossible. Un mélange de divers immunsérums n'offrira pas davantage de garanties. Il faut, lorsqu'on change de sérum ou de préparation antigénique, multiplier les témoins avec l'ancien réactif et le nouveau. Ceci ne simplifie pas la méthode.

Ceci dit, nous avons vu plus haut que les 5 espèces saprophytes étudiées ici peuvent être réparties en 3 groupes :

- treponema Reiter et treponema phagedenis
- treponema calligyra et treponema refringens
- treponema minutum

On constate que ces groupements ne se superposent pas aux groupements proposés par Bergey ou déduits de la classification de Babudieri d'après les travaux de Moureau et Guintini.

Cependant on peut émettre un doute quant à la présence de flagelles dans les espèces telles que treponema minutum et treponema refringens. Certes les images fournies par le microscope électronique semblent démontrer cette présence mais nous-même n'avons pu mettre en évidence, de façon constante, en microscopie optique, la présence de flagelles chez treponema refringens ou chez treponema minutum.

Par contre, nous avons signalé l'apparition, chez toutes nos espèces, des conditions reproductibles (que nous préciserons dans un autre travail), de filaments dont certains, fixés aux germes, évoquent parfaitement un flagelle et pourraient être à l'origine de photos en microscopie électronique telles que celles publiées par Moureau et Guintini. Nous avons même rencontré, chez treponema phagedenis, certains de ces pseudo flagelles spiralés, parfaitement raides, animés d'un mouvement rapide de rotation, ayant pour sommet leur point d'insertion. Sans vouloir donner pour l'instant une quelconque signification à ces formations, il nous paraît douteux qu'il s'agisse de véritables flagelles. S'il en est ainsi, toutes nos espèces entrent donc dans un même genre de la classification de Babudieri ^{mais qui n'est pas} celui des treponema.

La parenté, sur le plan antigénique, est corroborée par l'étude morphologique et culturale. Nous voyons que treponema minutum est très à part sur tous les plans : il

est plus fin, pousse mal, possède peu de communautés antigéniques avec les autres espèces étudiées.

Treponema Reiter et *treponema phagedenis*, qui appartiennent au même "groupe sérologique", poussent avec une égale abondance, évoluent avec une égale rapidité vers des formes vésiculées, ont une morphologie et une mobilité très voisines (*treponema phagedenis* est peut-être plus épais). Seuls, *treponema calligya* et *treponema refringens*, classés dans le même "groupe sérologique" se distinguent aisément entre eux, notamment par leur mobilité.

Enfin la pauvreté des communautés révélées à l'aide de divers sérums syphilitiques entre *treponema pallidum* et les cinq tréponèmes de culture est remarquable. Le fait convient d'être souligné particulièrement en ce qui concerne *treponema Reiter*, souvent considéré comme une souche de *treponema pallidum*. Cette pauvreté de communautés infirme une telle hypothèse et vient ajouter un argument de poids à l'absence de pathogénécité et aux différences morphologiques séparant les deux germes.

Il paraîtrait paradoxal de faire de deux germes, antigéniquement et morphologiquement aussi éloignés que *treponema Reiter* et *treponema pallidum*, deux souches d'une même espèce, en même temps que l'on ferait de deux germes aussi voisins que *treponema Reiter* et *treponema phagedenis* deux espèces différentes!

Nous nous contenterons, en conclusion, de maintenir ce terme de "groupement" des espèces. L'emploi de termes plus précis nécessiterait de nouvelles définitions. Il conviendrait alors que les critères sérologiques aient été appliqués à l'étude d'un nombre suffisant d'espèces, ce qui n'est pas le cas.

Ainsi les parentés antigéniques entre *treponema Reiter* et *phagedenis* n'allant pas jusqu'à l'identité, nous nous interdisons d'assimiler ces deux espèces en l'absence d'une définition valable du degré de communauté qui définirait "l'espèce sérologique" (comme par exemple a été défini par Wolff et Broom, en 1954, un "sérotyp", au sein des leptospires).

Par contre, l'individualité de *treponema minutum* et de *treponema pallidum* nous permet d'affirmer leur exis-

tence en tant qu'espèces différentes entre elles et différentes des autres espèces étudiées ici.

Notons enfin que les 4 groupes d'espèces ainsi définis (*treponema* Reiter-*treponema* phagedenis, *treponema* calligyra-*treponema* refringens, *treponema* minutum, *treponema* pallidum) appartiennent à un groupe sérologique plus large, caractérisé par la présence d'un antigène commun de nature protéique.

Nous voulons souligner l'accord existant entre nos propres résultats et les résultats apportés sur le même sujet, ou sur des sujets analogues, par de précédents travaux.

C'est ainsi que Robinson et Wichelhausen (31), soulignant l'insuffisance des critères morphologiques habituels, ont suggéré l'emploi de techniques sérologiques pour étayer la classification des spirochètes. Travaillant avec des préparations antigéniques obtenues par la formamide à 150-160°C, c'est-à-dire dépourvues d'antigène protéique de groupe, ils ont pu classer 23 espèces de spirochètes, dont 19 tréponèmes buccaux et 4 prétendues souches de *treponema* pallidum (Reiter, Kazan, Nichols, Noguchi) en 7 groupes sérologiques, au sein desquels il y a précipitation croisée alors qu'elle n'existe pas entre les groupes. L'un de ces groupes est constitué par une espèce sérologiquement isolée, les autres par un nombre variable d'espèces.

V - LES ANTICORPS PRECIPITANTS DES SERUMS NORMAUX

Nous avons vu qu'il existait, dans certains sérums syphilitiques d'une part, dans beaucoup de sérums normaux de diverses espèces animales d'autre part, des anticorps contre l'un des constituants antigéniques des tréponèmes du groupe n° 1 (*treponema* Reiter, *treponema* phagedenis). Nous n'avons mis en évidence, dans ce travail, qu'un seul système précipitant ; des travaux en cours semblent montrer que ces systèmes sont multiples.

Ce système étudié ici est le même dans le cas des sérums syphilitiques et dans le cas des sérums normaux, comme le montre la continuité des raies de part et d'autre d'une cuve opposant les deux types de sérum. Signalons que ce système précipitant ne fixe pas le complément. Ceci

est d'une importance pratique considérable en raison de l'utilisation de *treponema Reiter* dans la sérologie de la syphilis.

Nous avons vu que les sérums normaux utilisés pour la culture de nos germes ont un pouvoir agglutinant plus ou moins élevé qui gêne souvent le départ et le développement des cultures.

Nous n'avons pas cherché, dans ce travail, à étudier les rapports qui pouvaient exister entre les deux phénomènes. Toutefois des travaux poursuivis parallèlement nous ont montré :

- que c'était les mêmes sérums normaux qui, d'une part, nous donnaient in vitro des taux agglutinants élevés contre *treponema Reiter* et, d'autre part, fournissaient en gel, avec ce même germe, les raies de précipitation les plus nettes
- que le même pouvoir agglutinant, in vitro, était parallèle au pouvoir agglutinant en culture.

Sans vouloir affirmer que le même système intervient dans les 3 phénomènes (précipitation, agglutination en tubes, pouvoir agglutinant en culture), il est probable que les 3 effets soient dûs à une même cause.

De nombreux auteurs ont montré, dans les sérums de diverses espèces animales, la présence d'anticorps antimicrobiens non provoqués. Il s'agit le plus souvent d'immunisation spontanée contre des espèces saprophytes hébergées dans le tube digestif. Or on sait que l'animal et l'homme ont une flore spirochétienne parasite riche, au niveau de la cavité buccale et des voies génitales. On a vu que les espèces cultivables étudiées ici avaient été retrouvées dans cette flore banale.

Nous avons vu que ces anticorps normaux, précipitant en gel, ne se sont manifestés que contre *treponema Reiter* et *treponema phagedenis*. *Treponema phagedenis* semble beaucoup plus riche en antigènes responsables de la précipitation que *treponema Reiter*. Les antigènes correspondants paraissent totalement absents de *treponema refringens*, *calligyra* et *minutum*. Par contre, ces 3 dernières espèces poussent constamment agglutinées dans nos milieux,

alors que *treponema* Reiter et *treponema phagedenis* poussent sous une forme plus dispersée.

Il est donc probable que la présence, dans la flore génitale, de *treponema phagedenis*, *treponema* Reiter, *treponema refringens*, *treponema minutum*, *treponema calligyra*, ou d'espèces antigéniquement voisines, est responsable de l'immunisation naturelle de l'animal.

Le fait que nous n'ayons pu mettre en évidence d'anticorps que contre deux espèces (*Reiter* et *phagedenis*) peut seulement signifier que les antigènes correspondants sont trop peu immunogènes chez *treponema refringens*, *calligyra*, *minutum*. On a vu déjà que la raie de précipitation était, en regard des préparations antigéniques de *treponema* Reiter, à peine visible et plus proche de la source d'antigènes qu'en regard des préparations de *treponema phagedenis*.

Il se peut que l'immunisation de l'animal soit due au seul *treponema phagedenis* plus riche en cet antigène. Si, comme nous l'avons vu, la précipitation en gel et l'agglutination en culture sont parallèles, la plus grande agglutinabilité en culture des espèces qui ne donnent pas de précipitation en gel (*treponema refringens*, *treponema calligyra*, *treponema minutum*) paraît paradoxale. En fait, il faut noter que *treponema* Reiter et *treponema phagedenis* poussent plus abondamment et peuvent saturer plus rapidement et plus complètement les anticorps agglutinants des sérums.

Il est possible que des anticorps "naturels" précipitants soient présents dans les immunsérums anti *treponema* Reiter, *treponema phagedenis*, *treponema minutum*, *treponema calligyra*, *treponema refringens* qui nous ont servi à mettre en évidence les structures antigéniques propres à chaque espèce et les communautés inter spécifiques. Dans toutes les cuves faisant intervenir le sérum anti *treponema* Reiter, l'importance des communautés, la densité des précipités sont telles que la raie due à l'immunisation naturelle doit passer inaperçue. Il est possible qu'elle apparaisse dans les cuves mettant en jeu le sérum anti *treponema phagedenis*, celui-ci donnant des images moins denses, en cuve, que le sérum anti *treponema* Reiter. Le nombre important des communautés révélées par ce sérum avec les extraits de *treponema* Reiter et la

possibilité d'étudier ces communautés avec le sérum anti treponema Reiter, opposé à treponema phagedenis, rendent cette raie d'immunisation naturelle, si elle existe, peu gênante dans le cadre de cette étude comparative.

Dans les cuves destinées à l'étude de treponema refringens, treponema minutum, treponema calligyra, il est peu probable qu'une telle raie apparaisse puisque nous n'avons pu la mettre en évidence avec les sérums normaux opposés aux extraits antigéniques de tels germes. Toutefois son apparition, ou celle de raies d'origine semblable, est théoriquement possible, principalement dans les cuves où les communautés révélées sont peu nombreuses et peu marquées.

D'ailleurs malgré nos efforts, nous n'avons pu identifier, en cuve, aucune des raies révélées entre treponema Reiter et treponema calligyra, treponema Reiter et treponema refringens à la raie d'immunisation spontanée des sérums normaux ou syphilitiques, ceci en raison de la faible densité, de la largeur et du flou de ces raies (fig. 25).

G - R E S U M E

Nous avons comparé, dans cette étude, six espèces de tréponèmes anaérobies, d'une part à travers la littérature déjà parue à leur sujet, d'autre part à l'aide des techniques de fixation du complément et d'épuisements d'immunsérum, de précipitation en gel.

Ces six germes sont : *treponema phagedenis*, *treponema minutum*, *treponema calligyra*, *treponema refringens*, tous reconnus comme saprophytes des voies génitales, *treponema Reiter*, parfois considéré comme une souche apathogène de *treponema pallidum* et *treponema pallidum*.

Nous avons vu l'insuffisance évidente, et soulignée par plusieurs auteurs, des critères dont nous disposons (culturels, morphologiques, physiologiques) pour distinguer les espèces de tréponèmes et les classer. Les meilleurs travaux semblent reposer sur une étude des structures fines au microscope électronique.

Une étude incidente des caractères culturels, morphologiques de ces germes nous a permis de mettre à part l'espèce *treponema minutum* et de grouper des germes aux caractères voisins : *treponema Reiter* et *treponema phagedenis* d'une part, *treponema calligyra* et *treponema refringens* d'autre part, ces derniers ayant cependant des caractères distinctifs, notamment de mobilité.

L'étude sérologique de ces germes nous a permis de maintenir ces cadres.

Elle nous a permis de préciser la richesse antigénique de chaque espèce et l'étendue des communautés antigéniques au sein des groupes et entre les groupes. Elle a montré l'existence de systèmes propres ou communs, fixant le complément et précipitant en gel et de systèmes précipitant en gel mais ne fixant pas le complément.

L'étude du groupement de ces espèces, tel qu'il apparaît dans nos résultats, ne confirme pas toujours la

place attribuée à ces germes dans diverses classifications.

L'étude des sérums syphilitiques, à l'aide d'ultrasonnats des cinq espèces saprophytes, tant par fixation du complément que par précipitation en gel, a souligné la pauvreté des communautés antigéniques entre le tréponème pâle pathogène et ces espèces saprophytes réduites, dans nos expériences, au seul système protéine-anti protéine de groupe, au moins dans les cas où l'on a pu mettre ce système en évidence. Cela exclut pratiquement l'assimilation du tréponème pâle à l'un quelconque de ces germes et notamment au tréponème de Reiter, par ailleurs si proche de *treponema phagedenis*.

Certains sérums animaux et humains normaux contiennent un anticorps contre l'un des antigènes communs à *treponema Reiter* et *treponema phagedenis*. Ce système vient, avec les sérums syphilitiques, ajouter sa raie de précipitation à la raie protéique de groupe. Les ultrasonnats des espèces *refringens*, *calligyra* et *minutum* se sont révélés incapables de mettre cet anticorps en évidence. Ce système est précipitant mais ne fixe pas le complément.

Vu : Le Président de Thèse :
R. FASQUELLE

Vu : Le Doyen :
L. BINET

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris :

Jean ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BABUDIERI R. R.C. Ist. Sup. Sanit. (1954) 17, 986.
- (1bis) BARBAN S. J. Bact. (1954) 68, 493.
- (2) BERCK A. J. Hyg. (1939), 39, 298 .
- (3) BERDALL et BATAILLE . Médecine Moderne II (1891).
- (4) BERGEY's Man. of determ. Bact. (1957).
- (5) D'ALESSANDRO G., ODDO F., DARDONI L. Ven. Dis. Inform. (1950), 31, 314.
- (6) DOBELL C. Quart. J. of Micr. Sci. (1908), 52, 121.
- (7) DOBELL C. Arch. für Protistenk. (1912) 26, 151.
- (8) EAGLE M. et GERMUTH F.G. J. Bact. (1948) 60, 223.
- (8bis) EHRENBERG C. Die Infus. als Volk. Org. (Leipzig 1838).
- (9) KOLMER J.A. Am. J. of Syph. gon. and ven. Dis. (1941) 25, 300 et 412.
- (10) KOLMER J.A. Arch. derm. syph. (1942) 45, 455.
- (11) LEVADITI C. C.R. Soc. Biol. (1906) 2ème s., 183.
- (12) LEVADITI C. C.R. Soc. Biol. (1906) 2ème s. 184.
- (12bis) MOLBERT E. Z. Hyg. Infekt. Krankh Dtsch (1956) 142(6), 510.
- (13) MORTON Nature (1950) 166, 1092.
- (14) MOUREAU M. Ann. I.P. (1955) 88, 231.
- (15) MOUREAU M. Ann. I.P. (1955) 89, 127.
- (16) MOUREAU M. et GUINTINI J. Ann. I.P. (1956) 90, 728.
- (17) NOGUCHI H. J. of Exp. Med. (1911) 14, 99.
- (18) NOGUCHI H. J. of Exp. Med. (1912) 16, 261.
- (19) NOGUCHI H. J. of Exp. Med. (1912) 16, 466.
- (20) NOGUCHI H. J. of Exp. Med. (1913) 17, 89.
- (21) NOGUCHI H. et AKATSU S. J. of Exp. Med. (1917) 25, 765.
- (22) NOGUCHI H. J. of Exp. Med. (1918) 27, 575.
- (23) NOGUCHI H. J. of Exp. Med. (1918) 27, 667.
- (24) PETIT A. Contribution à l'Etude des Spirochétidés (Vanves 1928).
- (25) PILLOT J., ~~DUPOUEY P.~~ et FAURE M. Ann. I.P. (1959) 96, 196.
- (26) PILLOT J., DUPOUEY P. et FAURE M. Ann. I.P. (1960) 98, 737.
- (27) PILLOT J. A paraître (Ann. I.P.).
- (28) PREVOT A.R. Biologie des Maladies dûes aux Anaérobies.
- (29) PREVOT A.R. Manuel de Classification et de Détermination des Bactéries Anaérobies (1957).
- (30) REITER H. Die Medizinische Welt (Avril 1960) 14.
- (31) ROBINSON L.B., WICHELHAUSEN R.H. Bull. of the John H. Hosp. (1946) 79, 436.
- (32) ROSE, MORTON Am. J. of Syphilis (1952) 36, 16.
- (33) SEGUIN P. C.R. de la Soc. de Biol. (1950) 104, 247.
- (34) SHAUDINN F., HOFFMANN E. Dtsch. Med. Vchr. (1905) 18, 711.
- (35) SHAUDINN F., HOFFMANN E. Dtsch. Med. Vchr. (1905) 42, 1665.
- (36) SHAUDINN F., HOFFMANN E. Art. Gesundth. Amte (1904) 22, 527
- (36bis) SCHMEROLD W., DEUBNER B. Hautarzt Dtsch (1954) 5(11), 511.

- (37) TOPLEY and WILSON's Principles of Bacteriology and Immunity(1957).
- (38) VINZENT R., SEGUIN P., DAUFRESNE Y. C.R. de la Soc. de Biol. (1934) 116, 490.
- (39) ZINSSER H, HOPKINS J.G., MAC BURNEY M. J. of Exp. Med. (1916) 24, 561.
- (40) HOLLANDE A.C. Arch. fur Protistenk LXXXIII (3) 465.

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
A - INTRODUCTION	1
B - PLAN DE TRAVAIL	2
C - CRITERES HISTORIQUES D'ISOLEMENT ET DE MAINTIEN DES ESPECES	3
I - Caractères généraux	3
1) Historique des isoléments et de la conservation des souches	3
2) Milieux utilisés	3
3) Caractères morphologiques	4
4) Physiologie	6
5) Etudes sérologiques	6
6) Pouvoir pathogène	7
II - Caractères spécifiques différentiels	8
1) Treponema calligyra	8
2) Treponema minutum	9
3) Treponema phagedenis	11
4) Treponema refringens	12
5) Treponema Reiter	13
6) Treponema pallidum	15
III - Classification et nomenclature de ces germes ...	16
D - TECHNIQUES EXPERIMENTALES	19
I - Milieux de culture	19
II - Préparation des solutions antigéniques	19
III - Obtention des immunsérums	21
IV - Techniques sérologiques	22
1) L'agglutination	22
2) La diffusion en milieu gélifié	22
3) La fixation du complément	25
4) Les épuisements	25
E - RESULTATS	26
I - Critères non sérologiques de différentiation des espèces	26
1) Caractères communs à toutes les espèces	26
a- Caractères morphologiques	26
b- Caractères cultureux	27
Processus évolutif	28

	<u>Pages</u>
2) Caractères spécifiques différentiels	29
Conclusion	34
II - Critères sérologiques de différentiation des espèces	35
1) Etude, par des techniques de fixation du com- plément, des communautés antigéniques existant entre ces germes	36
2) Epuisements des anticorps contenus dans les divers immunsérums par les divers germes intégrés	38
3) Etude individuelle des espèces, en milieu géli- fié, à l'aide du sérum homologue de chaque germe	43
4) Etude comparative des espèces en milieu gélifié	48
5) Communautés antigéniques entre le tréponème pâle pathogène et les tréponèmes de culture étudiés ici	57
III - Les sérums normaux spontanément précipitants avec les ultrasonnats de certains des germes étudiés ici	61
F - DISCUSSION ET CONCLUSIONS	62
I - Les techniques	62
II - Les communautés antigéniques	63
III - Communautés antigéniques entre le tréponème pâle et les espèces saprophytes étudiées ici	68
IV - Discussion de la classification de ces espèces en fonction de nos résultats	69
V - Les anticorps précipitants des sérums normaux....	73
G - RESUME	77
BIBLIOGRAPHIE	79

